

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



**Implementação e validação de um método de ensaio em ICP-
-OES para a determinação de metais totais em amostras de
água**

Edgar Miguel Sobral dos Reis

Mestrado em Química Tecnológica

Dissertação orientada por:
Prof. Doutor Fernando José Vieira dos Santos
Dr. João Miguel Lourenço Paiva

2018

Este trabalho foi realizado no âmbito de um estágio curricular na Empresa Portuguesa das Águas Livres (EPAL, SA), sob a coordenação do Dr. João Paiva e orientado pelo Prof. Doutor Fernando Santos.

Resumo

Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento, validação e otimização de um método analítico de ensaio para quantificação de 23 elementos químicos (Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sn, Sr, V e Zn) em águas superficiais e subterrâneas para consumo humano através de espectrometria de emissão ótica (ICP-OES). Foram considerados para este estudo os limites legais definidos na legislação relevante.

Foram otimizados os parâmetros instrumentais para obtenção de maior sensibilidade e robustez dos resultados obtidos por esta técnica multiparamétrica, de forma a obter sinais analíticos adequados aos objetivos do método. Seguiu-se o estudo das interferências espectrais presentes nas linhas de emissão em estudo e dos efeitos de matriz presentes em amostras, sendo então selecionadas as linhas de emissão mais adequadas para cada elemento. Devido à presença de interferências associadas a efeitos de matriz, o método foi modificado com a adição de padrão interno (escândio). Foi ainda estudado o efeito da adição de cério como supressor de ionização com resultados positivos em matrizes com elevada concentração de elementos facilmente ionizáveis.

Procedeu-se então à determinação dos limites de quantificação, da linearidade, da exatidão e incerteza do método nas gamas de trabalho selecionadas, assim como da estabilidade instrumental em regime de rotina. Por fim, foram definidos critérios de qualidade para a execução do método em regime de rotina e foram elaboradas cartas de controlo para desenvolvimento do processo de controlo de qualidade.

Os objetivos foram cumpridos para a generalidade dos elementos em estudo, com a exceção do níquel, onde os limites obtidos foram insuficientes tendo em conta os requisitos legais. Em alguns casos foi possível ir para além dos requerimentos legais vigentes, preparando o método para possíveis enquadramentos legais futuros mais exigentes.

Palavras-chave: ICP-OES, controlo de qualidade da água, desenvolvimento de método analítico, quantificação de metais totais em águas para consumo, padrão interno de escândio.

Abstract

This work has the objective of developing, validating and optimizing an analytical assay method for the quantification of 23 chemical elements (Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sn, Sr, V and Zn) in superficial and subterranean waters for human consumption through optical emission spectroscopy (ICP-OES). For this work the legal limits defined in the relevant legislation were considered.

The instrumental parameters were subject to optimization for the obtention of higher sensibility and sturdiness of the results from this multiparametric technique, as to obtain analytical signals which are adequate for the purposes of the method. This was followed by the study of spectral interferences present in the studied emission lines and the matrix effects present in samples, with the selection of the spectral emission for the selected emission lines. Due to the presence of interferences caused by matrix effects, the method was modified with the addition of internal standard (scandium). The effect of the addition of caesium as a ionic ionization suppressant was studied, with successful results in matrices with large concentrations of easily ionizable elements.

The work proceeded with the determination of the limits of quantification, linearity, accuracy and uncertainty of the method in the chosen work ranges, as well as the evaluation of the instrumental stability in routine regime. Criteria for routine quality control of the method were defined and control cards were elaborated for purposes of quality control.

The objectives were fulfilled for most of the studied elements, with the exception of nickel, where the limits obtained were insufficient to meet legislative demands. In some cases, it was possible to go beyond the current legal requirements, preparing the method for possible future more demanding legal frameworks

Keywords: ICP-OES, water quality control, development of analytical method, quantification of total metals in drinking water, scandium internal standard

Agradecimentos

Quando decidi embarcar neste projeto, apesar de já possuir alguns conhecimentos sobre os princípios teóricos por detrás da técnica de análise química alvo do presente estudo, não poderia sequer imaginar muitos dos problemas que foram surgindo ao longo do projeto, colocando á prova conhecimentos não só em Química mas também em outras áreas do saber, exigindo um processo de aprendizagem multidisciplinar ao longo do período de estágio que não teria sido possível sem a colaboração do meu orientador externo, o Dr. João Paiva, ao qual agradeço a paciência, erudição e a sua capacidade pedagógica na transmissão de conhecimentos essencial para o sucesso deste projeto.

Quero também agradecer ao meu orientador interno, o Prof. Doutor Fernando Santos, que desde o 1º ano da Licenciatura em Química Tecnológica tem vindo a transmitir conhecimentos essenciais ao longo do meu percurso académico.

Por último, mas certamente não com menor importância, não posso deixar de agradecer á EPAL pela oportunidade e confiança depositada, e em especial a todo o pessoal da área de Química Inorgânica do Laboratório de Lisboa da EPAL, de profissionalismo e competência excepcionais, pelo apoio prestado ao longo destes oito meses de estágio, assim como aos meus amigos e colegas de curso, à minha família e, em especial, aos meus pais, cuja perserverança sempre me inspirou, e a quem dedico este trabalho.

Edgar Miguel Sobral dos Reis

Glossário de abreviaturas e símbolos

AAS:	Espectrometria de absorção atômica (<i>atomic absorption spectrometry</i>)
bar:	Unidade de pressão (não incluída no sistema internacional)
CID:	Detetor por injeção de carga (<i>charge injection detector</i>)
d:	Diâmetro
EIE:	Elementos facilmente ionizáveis (<i>easily ionizable elements</i>)
EPA:	Environmental Protection Agency (agência de proteção ambiental dos EUA)
EPAL :	Empresa Portuguesa das Águas Livres, SA
ERSAR:	Entidade Reguladora dos Serviços de Águas e Resíduos
FES:	Espectroscopia de emissão de chama (<i>Flame Emission Spectroscopy</i>)
LIBS:	Espectroscopia de desintegração induzida por laser (<i>Laser Induced Breakdown Spectroscopy</i>)
ICP-OES:	Espectrometria de emissão óptica com plasma indutivo acoplado (<i>Inductively Coupled Plasma – Optical Emission Spectrometry</i>)
Hz:	Hertz (unidade SI de frequência)
IPAC:	Instituto Português de Acreditação
IPQ:	Instituto Português da Qualidade
ISO:	International Standard Organization
IUPAC:	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD:	Limite de deteção
LIMS:	Laboratory Information Management System
LQ:	Limite de quantificação
M:	Molar
ME:	Método de ensaio
MRC:	Materiais de referência certificados
PC:	Padrão de controlo
PCQA:	Plano de controlo de qualidade da água
PP:	Polipropileno
PVA:	Álcool polivinílico
PVC:	Policloreto de vinilo
R:	Coeficiente de regressão linear
RF:	Radiofrequência
rpm:	Rotações por minuto

RSD: Desvio padrão relativo (*relative standard deviation*)

s: Desvio padrão

s_b : Desvio padrão dos valores lidos a partir de um material de referência

SI: Sistema internacional de unidades

U: Incerteza expandida

U_c: Incerteza combinada

UV: Ultravioleta (radiação)

Vis: Visível (radiação)

VMA: Valor máximo admissível

VMR: Valor máximo recomendado

W: Watt, unidade de potência do SI

ΔE : Intervalo de energia entre o estado fundamental de um átomo e um estado excitado

λ : Comprimento de onda

ν : Frequência da radiação

σ : Desvio padrão de uma população

Índice

Capítulo 1: Introdução	1
1.1: Qualidade da água	1
1.2: Espectroscopia de emissão	2
1.3: Interferências	5
1.4: Método de ensaio	6
 Capítulo 2: Desenvolvimento do método analítico	 7
2.1: Material e equipamento	7
2.2 Otimização dos parâmetros instrumentais	8
2.2.1. Otimização da potência do plasma e do fluxo principal de argon	9
2.2.2. Otimização dos tempos de aquisição de sinal	11
2.2.3. Otimização da velocidade da bomba peristáltica	13
2.2.4. Otimização dos ciclos de entrada de amostra e lavagem do equipamento	15
2.3: Seleção de linhas analíticas	20
2.4: Estudo de interferências espectrais e efeitos de matriz	22
 Capítulo 3: Validação do método de ensaio	 32
3.1: Introdução	32
3.1.1: ISO 11352	32
3.1.2: ISO 8466	32
3.1.3: Limites analíticos do método de ensaio	34
3.2: Determinação de limites analíticos	35
3.3: Linearidade	37
3.4: Estudo da incerteza do método	39
3.5: Validação via ensaio interlaboratorial	43
 Capítulo 4: Implementação do método em rotina	 44
4.1: Preparação de padrões	44
4.2: Estabilidade	45
4.3: Controle de qualidade	46
4.4 Sequência analítica	49
4.5: Manutenção do equipamento em rotina	51
 Conclusões	 53
 Bibliografia	 54

Anexos

Anexo I – Otimização da potência do gerador RF	a
Anexo II – Otimização dos tempos de integração	e
Anexo III – Otimização da velocidade da bomba peristáltica.....	m
Anexo IV – Interferências espectrais.....	v
Anexo V - Estudo de padrão interno e supressor de ionização	nnn
Anexo VI – Distribuição de valores de Ca, K, Mg e Na em amostras analisadas pelo laboratório em 2017	www
Anexo VII – Gráficos de desvio padrão dos resultados obtidos após leitura de amostras	yyy
Anexo VIII – Espectros de emissão das linhas analíticas do método de ensaio.....	hhhh
Anexo IX – Materiais de referência utilizados	qqqq

Índice de figuras

Fig. 1.1: Chamas produzidas por sais de estrôncio, cério, sódio e lítio.....	2
Fig. 1.2: Espectro de emissão do átomo de hidrogênio (^1H).....	3
Fig. 1.3: Esquema em bloco do funcionamento de um espectrômetro ICP-OES.....	4
Fig. 2.1: Espectrômetro de emissão atômica ICP-OES Thermo Fischer iCAP™ 7400.....	7
Fig. 2.2: Variação em percentagem da intensidade de sinal com a potência RF para a linha de emissão de potássio.....	10
Fig. 2.3: Variação em percentagem da intensidade de sinal com a potência RF para a linha de emissão de lítio.....	10
Fig. 2.4: Variação em percentagem da intensidade de sinal com a potência RF para a linha de emissão de fósforo.....	11
Fig. 2.5: Variação em percentagem da intensidade de sinal com a potência RF para a linha de emissão de níquel.....	11
Fig. 2.6: Variação de RSD com o aumento do tempo de integração para a linha analítica de emissão de sódio.....	12
Fig. 2.7: Variação de RSD com o aumento do tempo de integração para a linha analítica de emissão de cobalto.....	12
Fig. 2.8: Variação de RSD com o aumento do tempo de integração para a linha analítica de emissão de cromo.....	12
Fig. 2.9: Variação de RSD com o aumento do tempo de integração para a linha analítica de emissão de vanádio.....	13
Fig. 2.10: Variação de intensidade com o aumento da velocidade da bomba peristáltica para a linha analítica de emissão de silício.....	13
Fig. 2.11: Variação de RSD com o aumento da velocidade da bomba peristáltica para a linha analítica de emissão de silício.....	14
Fig. 2.12: Variação de intensidade com o aumento da velocidade da bomba peristáltica para a linha analítica de emissão de zinco.....	14
Fig. 2.13: Variação de RSD com o aumento da velocidade da bomba peristáltica para a linha analítica de emissão de zinco.....	14
Fig. 2.14: Interferência positiva (espectral) devida ao espectro de emissão de ferro na linha de emissão de manganês a 259,373 nm.....	23
Fig. 2.15: Interferência negativa (efeito de matriz) devida a concentrações elevadas de sódio na linha de emissão de alumínio a 167,079 nm.....	24
Fig. 2.16: Espectro de emissão de boro a 249,678 nm em modo de leitura axial com presença de interferência espectral na zona de integração à esquerda da linha de emissão.....	25

Fig. 2.17: Espectro de emissão de vanádio a 292,464 nm em modo de leitura axial com sobreposição da linha de emissão de interferente e analito.....	25
Fig. 2.18: Interferência negativa (efeito de matriz) devida a concentrações elevadas de cálcio na linha de emissão de magnésio a 280,270 nm.....	26
Fig. 2.19: Interferência negativa (efeito de matriz) devida a concentrações elevadas de sódio na linha de emissão de cobre a 224,700 nm (10/20 µg/L).....	26
Fig. 2.20: Interferência negativa (efeito de matriz) devida a concentrações elevadas de sódio na linha de emissão de crómio a 267,716 nm (5/10 µg/L).....	27
Fig. 2.21: Variação percentual da intensidade da linha de vanádio (30 µg/L) com concentrações crescentes de EIE, após implementação de padrão interno e supressor iónico.....	28
Fig. 2.22: Variação percentual da intensidade da linha de emissão de cobre (30 µg/L) com concentrações crescentes de EIE, após implementação de padrão interno.....	28
Fig. 2.23: Efeito da adição de cézio na variação percentual da intensidade da linha de emissão de crómio (15 µg/L) a 267,716 nm com concentrações crescentes de EIE.....	29
Fig. 2.24: Variação percentual da intensidade da linha de emissão de crómio (15 µg/L) com concentrações crescentes de EIE, após implementação de padrão interno.....	29
Fig. 3.1: Fluxograma com procedimentos para cálculo da incerteza expandida do método de ensaio (adaptado da norma ISO 11352:2012)	32
Fig. 3.2: Reta de calibração e banda de incerteza associada.....	34
Fig. 3.3: Reta de calibração para a linha de emissão de cádmio (214,438 nm), estimada aplicando o método dos mínimos quadrados a uma média de três leituras de cada padrão.....	38
Fig. 3.4: Reta de calibração para a linha de emissão de fósforo (177,495 nm), estimada aplicando o método dos mínimos quadrados a uma média de três leituras de cada padrão.....	39
Fig. 4.1: Gráfico da variação da concentração lida com o tempo para a linha de emissão de alumínio a 167,079 nm.....	46
Fig. 4.2: Gráfico da variação da concentração lida com o tempo para a linha de emissão de fósforo a 177,495 nm.....	46
Fig. 4.3: Carta de controlo de PC (valores individuais) da linha de emissão de cobre a 224,700 nm.....	47
Fig. 4.4: Carta de controlo de PC (amplitudes móveis) da linha de emissão de cobre a 224,700 nm.....	48
Fig. 4.5: Carta de controlo de duplicados (amplitudes móveis) da linha primária de emissão de boro a 249,773 nm.....	48
Fig. 4.6: Carta de controlo do LQ (amplitudes móveis) para a linha de emissão de alumínio a 167,079 nm.....	48
Fig. 4.7: Carta de controlo de MRC (valores individuais) da linha de emissão de estrôncio a 407,771 nm.....	49
Fig. 4.8: Full frame da zona ultravioleta do detetor, em modo axial.....	50
Fig. 4.9: Full frame da zona visível do detetor, em modo radial.....	50
Fig. 4.10: Full frame da zona visível do detetor, em modo radial.....	51

Índice de tabelas

Tab. 1.1: Limites legais para elementos presentes em águas de consumo na legislação portuguesa.....	1
Tab. 2.1: Lista de padrões usados no estudo.....	8
Tab. 2.2: Gamas de trabalho e modo de leitura, por elemento, durante o processo de optimização instrumental.....	9
Tab. 2.3: Alterações de sinal, em % do valor lido em P1, causados por efeito de memória, com tempo de lavagem de 45 segundos.....	16
Tab. 2.4: Alterações de sinal, em % do valor lido em P1, causados por efeito de memória, com tempo de lavagem de 60 segundos.....	17
Tab. 2.5: Alterações de sinal, em % do valor lido em P1, causados por efeito de memória, com tempo de lavagem de 75 segundos.....	18
Tab. 2.6: Parâmetros de funcionamento para o espectrómetro Thermo Fischer iCAP™ 7400.	19
Tab. 2.7: Linhas espectrais avaliadas para o método de ensaio.....	21
Tab. 2.8: Sensibilidade das linhas de emissão.....	22
Tab. 2.9: Concentrações de interferentes espectrais estudadas.....	23
Tab. 2.10: Efeito das interferências espectrais nas linhas de emissão.....	24
Tab. 2.11: Linhas de emissão selecionadas para o método analítico.....	30
Tab. 2.12: Gamas de trabalho para cada linha de emissão.....	31
Tab. 3.1: Limites de deteção e quantificação para as linhas de emissão do ME.....	36
Tab. 3.2: Gama de trabalho por linha de emissão do ME.....	37
Tab. 3.3: MRC estudados para avaliação da exatidão.....	40
Tab. 3.4: Incertezas determinadas com recurso a MRC e teste t de Student.....	41
Tab. 3.5: Amostras analisadas para estudo da incerteza.....	41
Tab. 3.6: Incerteza do método de ensaio por linha de emissão.....	41
Tab. 3.7: Resultados (z-score) dos ensaios interlaboratoriais realizados.....	42
Tab. 4.1: Preparação de soluções intermédias (cada cor simboliza solução intermédia independente)	44
Tab. 4.2: Preparação de padrões a partir de soluções intermédias (valores por 100 ml de padrão).....	45

Capítulo 1: Introdução

1.1: Qualidade da água

A água é um bem absolutamente essencial para a sobrevivência do ser humano, sendo a molécula maioritária no corpo humano. O acesso a água potável encontra-se consagrado pela ONU como um direito fundamental (resolução 64/292) e a presença de contaminantes em águas para consumo é considerada uma ameaça séria para a saúde pública. No entanto, o ser humano também consome água contida em alimentos de origem animal ou vegetal e estes podem ser sujeitos a contaminações de cursos de águas naturais, cuja monitorização é também crucial.

Dado que a água possui elevado poder de solvatação para um leque variado de elementos e compostos químicos presentes no meio natural, trata-se de uma matriz que pode ser complexa com presença de metais que, para efeitos de análise, são habitualmente subdivididos nas categorias de metais dissolvidos, metais em suspensão e metais totais, listando-se abaixo (tabela 1.1) alguns dos elementos e o historial recente dos seus respetivos limites legais que podem ser encontrados em captações de águas para consumo, exigindo um processo de controlo da qualidade da água (PCQA) envolvendo laboratórios acreditados para esse fim.

Tabela 1.1: Limites legais para elementos presentes em águas de consumo na legislação portuguesa

Elemento	DL 236/98 (VMR)	DL 306/2007 (valor paramétrico)	DL 152/2017 (valor paramétrico)
Al	50 µg/L	200 µg/L	200 µg/L
B	1000 µg/L	1000 µg/L	1000 µg/L
Ba	100 µg/L (VMA)	100 µg/L	-
Ca	100 mg/L	100 mg/L*	100 mg/L*
Cd	1 µg/L	5 µg/L	5 µg/L
Cr	50 µg/L (VMA)	50 µg/L	50 µg/L
Cu	20 µg/L	2000 µg/L	2000 µg/L
Fe	50 µg/L	200 µg/L	200 µg/L
K	10 mg/L	12 mg/L	-
Mg	30 mg/L	50 mg/L*	50 mg/L*
Mn	20 µg/L	50 µg/L	50 µg/L
Na	20 mg/L	200 mg/L	200 mg/L
Ni	-	20 µg/L	20 µg/L
P	400 µg/L**	5000 µg/L	-
Pb	50 µg/L (VMA)	10 µg/L	10 µg/L
Zn	500 µg/L	3000 µg/L	-

*valores recomendados para cálcio e magnésio

**concentração de fosfatos (P₂O₅)

O setor de abastecimento de águas de consumo em Portugal é regulado pela ERSAR, autoridade que zela pelo controlo adequado da qualidade de águas para consumo, disponibilizando publicamente dados sobre a qualidade da água para consumo humano.

Em Portugal, cerca de 80% da população é abastecida pelo grupo Águas de Portugal (AdP), empresa com capital detido pelo estado português, onde se insere a Empresa Portuguesa das Águas Livres (EPAL, SA), responsável pela operação de dois laboratórios de análise, o laboratório de Lisboa e o laboratório de Vale da Pedra, conjuntamente responsáveis pelo PCQA do sistema de abastecimento de água para consumo da EPAL. Ambos os laboratórios são acreditados para este fim pelo IPAC.

Um laboratório com esta responsabilidade e dimensão requer técnicas analíticas aplicáveis em regime de rotina para análise de amostras de águas de consumo humano, capazes de cumprir os requisitos legais, de forma a fornecer um serviço essencial para a comunidade onde se insere, assegurando a qualidade da água consumida. Este controlo incide sobre contaminantes biológicos, orgânicos e inorgânicos, sendo comum, para este último grupo, o recurso a técnicas espectroscópicas de massa^[1], de emissão óptica^[2], fluorescência^[3] e absorção^[4] para análises multielementares de matrizes aquosas.

1.2: Espectroscopia de emissão

O termo espectroscopia provem do latim *spectrum* (imagem) e do grego *skopéo* (observar), sendo definido como a observação das interações entre a matéria e a radiação eletromagnética. Dentro deste vasto campo, a espectrometria de emissão refere-se a fenómenos onde a matéria emita radiação eletromagnética.

O conhecimento dos fenómenos de emissão atómica tem uma longa história, inextricavelmente ligada ao desenvolvimento do conhecimento científico sobre a natureza do próprio átomo. Na Antiguidade Clássica eram queimados sais, produzindo alterações que à altura eram inexplicáveis (por mecanismos científicos) na coloração da chama resultante (figura 1.1), mas para a compreensão deste fenómeno foi preciso aprofundar primeiro o próprio conhecimento da cor enquanto fenómeno característico da radiação (Newton, Scheele e Herschel produziram contribuições científicas cruciais neste campo) e em 1776 Alessandro Volta realizou descargas elétricas em diferentes gases, verificando que estas apresentavam também cores diferentes (à semelhança dos sais queimados).



Figura 1.1: Chamas produzidas por (da esquerda para a direita) sais de estrôncio, cézio, sódio e lítio (fonte: Claire Baker, Annabella Murray - Diamond Light Source)

No entanto, uma explicação para estes fenómenos continuava a iludir a comunidade científica até que Fraunhofer observou que o espectro de emissão solar, aparentemente contínuo, possuía faixas correspondentes a certos comprimentos de onda onde não havia emissão de

radiação, colocando-se a hipótese de a emissão de radiação com determinado comprimento de onda ser uma característica dos átomos envolvidos, hipótese comprovada por Kirchhoff e Bunsen e utilizada na identificação de quatro novos elementos (Cs, Rb, Ti e In). O desenvolvimento dos modelos atômicos (Rutherford e Bohr, entre outros) e a descoberta da natureza quantizada das orbitais eletrônicas (Planck e Einstein) conduziram à determinação dos números quânticos e níveis de energia permitidos ao elétron (equação de Schrödinger – resolvida para o elétron do átomo ^1H) e a obtenção do espectro de emissão atômica do hidrogénio (ver figura 1.2).^[4]

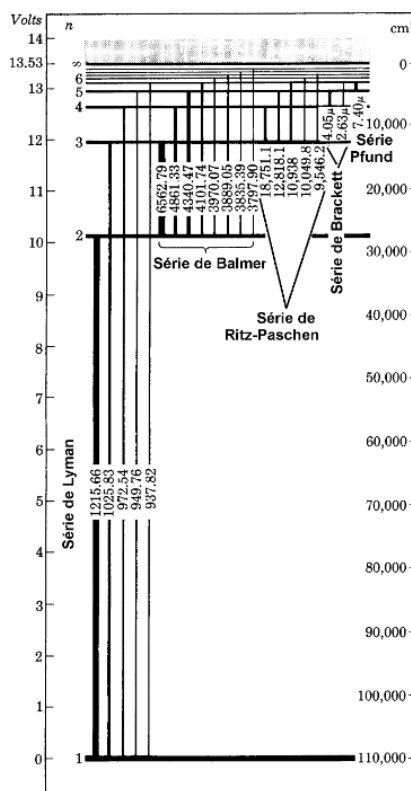


Figura 1.2: Espectro de emissão do átomo de hidrogénio (^1H)^[4]

Em 1955 Walsh, Alkemade e Milatz elaboraram um método de análise elementar quantitativo com base na absorção de radiação por átomos ionizados numa chama, que daria origem à técnica de análise espectroscópica por absorção atômica (AAS)^[4] e em 1964 Stanley Greenfield reportou o uso de um plasma indutivamente acoplado para análise da radiação emitida por elementos contidos nesse plasma, desenvolvendo-se a técnica de análise elementar ICP-OES, apresentando como principal vantagem face à absorção atômica a redução dos fenómenos de interferência espectrais e de matriz e a capacidade de ionização de elementos com elevadas energias de ionização.^[2]

As técnicas de emissão ótica baseiam-se na transição dos eletrões dos átomos para níveis de energia excitados e subsequente libertação de energia sob a forma de radiação com o decaimento dos eletrões para níveis mais baixos de energia. Estas transições variam de elemento para elemento, apresentando comprimentos de onda característicos e sinais dependentes do número de eletrões ionizados e das diferentes orbitais eletrônicas envolvidas, conferindo elevada reprodutibilidade à técnica.^[4] Consequentemente, estas técnicas requerem fontes de energia capazes de ionizar os átomos dos elementos quantificados, sendo por isso subdivididas

de acordo com a fonte de energia, destacando-se as técnicas FES, ICP e LIBS, respetivamente emissão de chama, plasma acoplado indutivamente e desintegração induzida por laser.

Aqui será alvo de foco a técnica de análise multielementar ICP-OES (também conhecida como ICP-AES), que consiste na utilização de um campo eletromagnético alternante induzido por corrente elétrica como fonte de energia para a ionização das partículas de um gás inerte (árgon ou azoto, em geral) e consequente formação de um plasma no qual é injetada a amostra através de um nebulizador (normalmente pneumático - ver figura 1.3), devendo esta ser introduzida de forma homogénea e apresentar tamanhos de gotícula pequenos (idealmente $< 10\ \mu\text{m}$), de forma a garantir um fluxo uniforme de amostra e mantendo o plasma estável. Este plasma, que no caso do árgon atinge temperaturas geralmente compreendidas entre 5000 e 10000 K (minimizando fenómenos de autoabsorção frequentes em técnicas de AAS), é mantido num percurso linear por uma corrente exterior de gás auxiliar, formando uma zona de temperaturas mais baixas, toleradas por materiais transparentes como o quartzo, sendo a radiação emitida transmitida ao longo de um percurso ótico até atingir um detetor (ou conjunto de detetores), sendo os detetores mais comuns para este fim os CCD e CID, respetivamente, dispositivo de carga acoplada e dispositivo de carga induzida, apresentando estes últimos a vantagem de poderem ser lidos em cada pixel de forma independente, permitindo a otimização dos tempos de leitura de cada pixel, melhorando consequentemente a razão sinal/ruído. A leitura pode ser realizada ao longo do comprimento da tocha (modo axial) ou numa secção vertical (modo radial), sendo o modo axial capaz de apresentar um sinal mais intenso mas também com maior ruído de fundo, estando a maior parte dos aparelhos atuais preparados para os dois modos de leitura^{[4][5]}

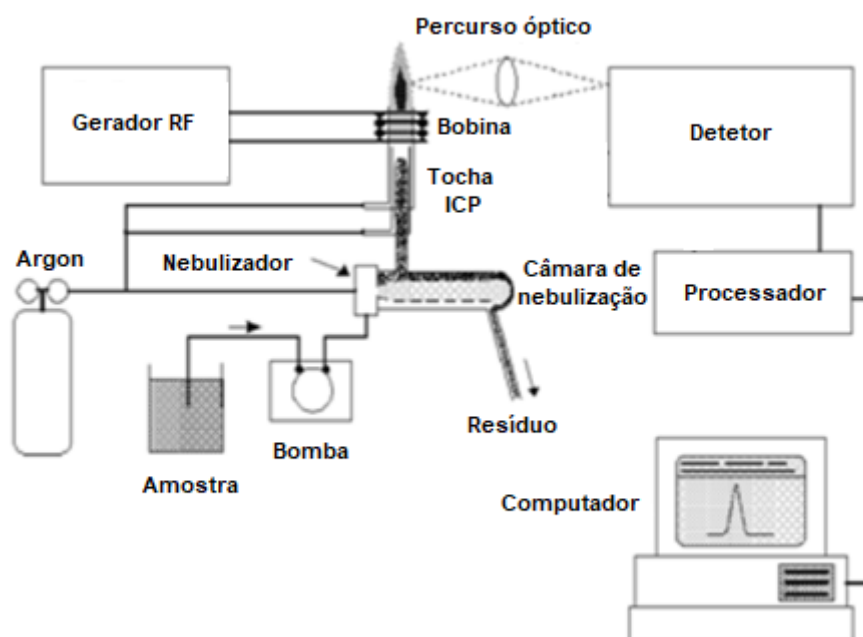


Figura 1.3: Esquema em bloco do funcionamento de um espectrómetro ICP-OES (adaptado)^[6]

Em aplicações destinadas a análises de matrizes variáveis e complexas, é possível recorrer a supressores de efeitos de carga iónica (como o cézio) ou ao uso de um (ou mais) elementos como padrão interno, de forma a obter uma técnica analítica mais robusta e menos sensível a efeitos de matriz. A adição de padrão interno apresenta ainda a vantagem de minorar o efeito de eventuais perturbações externas (desgaste do equipamento, variações de temperatura,

entre outras). Em ambos os casos, deve ser usado um elemento que não seja alvo de quantificação no método analítico em causa e que não apresente interferências espectrais significativas nas linhas de emissão em estudo. O escândio e o ítrio são dois dos padrões internos mais usuais para métodos de análise em ICP-OES.^{[7][8]}

Esta técnica, para além das suas aplicações em análises de águas naturais e de consumo é também usada para análise elementar de águas residuais e salgadas, cinzas e poeiras, ligas metálicas e metais, carvão e derivados do petróleo e produtos farmacêuticos.^[2] A técnica apresenta vantagens consideráveis sobre outras técnicas de âmbito semelhante (análise elementar de matrizes aquosas), destacando-se a elevada capacidade de atomização e ionização e consequente alta sensibilidade, elevada reprodutibilidade, aplicabilidade para um elevado leque de elementos, possibilidade de análise multielementar simultânea, tempo de análise e consumo de amostra reduzidos, possibilidade de acoplamento com técnicas de separação (geração de hidretos^[9] e HPLC^[10], entre outros) e minimização de fenómenos de interferência espectral mas apresenta algumas desvantagens, como a baixa sensibilidade para determinados elementos (como Ag, Bi, Pb), o elevado consumo de gás inerte de alta pureza e não permitir a especiação de iões segundo o seu estado de oxidação (embora possam ser acopladas técnicas de separação para este fim). Trata-se de uma técnica versátil e ideal para análise multielementar em modo de rotina de um fluxo elevado de amostras em sistemas com introdução de amostra automatizada, tendo por isso substituído gradualmente outras técnicas como a espectrometria de absorção atômica (AAS) em aplicações dessa natureza.

1.3: Interferências

Esta técnica pode sofrer vários tipos de efeitos de interferência, estando estes efeitos subdivididos em interferências espectrais e não espectrais.

As interferências espectrais acontecem quando existem picos de emissão de elementos presentes na amostra em comprimentos de onda muito próximos e com intensidades de sinal com ordens de grandeza próximas, superando a capacidade de separação do equipamento (resolução). Embora a natureza do erro associado seja aditiva, a determinação da contribuição de cada elemento para o sinal analítico apresenta um elevado grau de complexidade, pelo que é desejável, sempre que possível, evitar efetuar análise em picos com interferências espectrais. Estas interferências geralmente são de tipo positivo (provocam leituras por excesso) mas podem ser de tipo negativo, caso afetem apenas a vizinhança do pico de emissão.

As interferências não espectrais subdividem-se em interferências físicas, químicas e de excitação. As interferências físicas prendem-se com alterações das condições de transporte da amostra (flutuações de viscosidade, densidade, tensão superficial) com impacto no fluxo de analito e consequentemente na qualidade da análise. As interferências químicas englobam a formação de compostos moleculares, variações nos estados de oxidação (sendo cada linha de emissão característica de apenas um estado de oxidação) e efeitos de vaporização do soluto. No entanto, para temperaturas elevadas de plasma e elementos não voláteis, estas interferências são raras. Por último, as interferências de excitação prendem-se com alterações da temperatura do plasma e da sua densidade eletrónica e consequente variação do sinal analítico.^[11]

Para a resolução de interferências não espectrais, é comum o recurso à adição de padrão interno (devendo este ser um elemento não interferente com as linhas de emissão do método analítico e não apresentar interferências significativas (de ambos os tipos) dos elementos presentes nas amostras. São usados para este fim elementos como escândio e ítrio.

1.4: Método de ensaio

De acordo com os requisitos legais, para a análise de águas de consumo e superficiais é necessário um método de ensaio devidamente validado e acreditado por autoridades competentes para esse efeito (como o IPAC). Um método de ensaio para uma técnica de ICP-OES é constituído por um procedimento analítico detalhado, com os materiais e reagentes usados e todos os procedimentos efetuados para a análise de uma amostra (colheita, preservação, processos de filtração, entre outros) e por informação sobre os parâmetros instrumentais, as linhas de emissão selecionadas, gamas de trabalho, interferências detetadas e demais informação relevante. Deve ainda conter a informação sobre os processos de controlo de qualidade dos resultados.

Para a validação de um método de ensaio, é necessário adquirir informação sobre a exatidão, repetibilidade e reprodutibilidade dos resultados e determinar a incerteza global do método de ensaio. Para este processo, é adquirida informação de ensaios intra e interlaboratoriais, são analisados materiais de referência certificados (MRC), padrões de calibração e controlo, brancos, recuperações, duplicados e amostras reais. São ainda elaboradas cartas de controlo e definidos processos de controlo de qualidade para assegurar o correto desempenho do método de ensaio. Estes aspetos serão focados com maior detalhe nos capítulos 3 e 4.

Capítulo 2: Desenvolvimento do método analítico

2.1: Material e equipamento

O presente estudo foi efetuado com um espectrómetro de emissão atômica com plasma indutivo acoplado (ICP-OES) Thermo Fischer iCAP™ 7400 (figura 2.1), equipado com um módulo de amostragem automático CETAC ASX 560, operado com fluxo de argon (+99,9995%), leitor em modo dual (capaz de ler nos modos axial e radial), detector CID com grade tipo echelle, bomba peristáltica e nebulizador concêntrico de vidro e tocha de plasma em quartzo. Para aquisição de dados e controlo do processo analítico foi usado o software da Thermo Fisher Qtegra Intelligent Scientific Data Solution™.



Figura 2.1: Espectrómetro de emissão atômica ICP-OES Thermo Fischer iCAP™ 7400

Foi usado ainda o seguinte material e reagentes:

- Balões volumétricos de PP e PVA de 50, 100 e 250 mL (classe A) e de 500 mL (classe B)
- Tubos de PP de 20 e 50 mL para introdução de amostras no amostrador automático
- Tubos de introdução de amostra por bomba peristáltica de PVC
- Micropipetas calibradas
- Árgon comprimido Air Liquide ALPHAGAZ (+99,9995%)
- Água ultrapura grau 1 (de acordo com a norma ISO 3696 - obtida por osmose inversa e resinas de permuta iónica)
- Ácido nítrico concentrado bidestilado*
- Ácido clorídrico p.a., 37%
- Padrões analíticos aquosos elementares (ver tabela 2.1)
- Padrão de cloreto de cézio, sal (+99,999%) - Alfa Aesar
- Material corrente de laboratório

*destilado *in loco* a partir de ácido nítrico p.a. e analisado contra ácido nítrico Merck Suprapur® para quantificação de elementos contaminantes

Tabela 2.1: Lista de padrões usados no estudo

Elemento	Concentração (mg/L)	Marca (Padrão de calibração)	Marca (padrão de controlo)
Ca	10000	Analytika	Alfa Aesar
Mg	10000	Alfa Aesar	Merck
K	10000	Alfa Aesar	Merck
Na	10000	Analytika	Alfa Aesar
Si	10000	Alfa Aesar	SCP Science
Al	1000	SCP Science	Merck
B	1000	SCP Science	Merck
Ba	1000	SCP Science	Merck
Be	1000	SCP Science	Merck
Cd	1000	Alfa Aesar	Merck
Co	1000	Alfa Aesar	Merck
Cr	1000	Alfa Aesar	Merck
Cu	1000	SCP Science	Merck
Fe	1000	SCP Science	Merck
Li	1000	Alfa Aesar	Merck
Mn	1000	SCP Science	Merck
Mo	1000	Alfa Aesar	Alfa Aesar
Ni	1000	Alfa Aesar	Merck
P	1000	SCP Science	Merck
Sn	1000	Alfa Aesar	Alfa Aesar
Sr	1000	Alfa Aesar	Alfa Aesar
V	1000	Alfa Aesar	Merck
Zn	1000	Alfa Aesar	Merck

2.2 Otimização dos parâmetros instrumentais

Foram estudados quatro parâmetros instrumentais com o objetivo de assegurar condições ótimas para a aquisição de dados analíticos, sendo estes a potência do gerador de radiofrequência (RF) e o fluxo de gás do plasma associado, os tempos de aquisição de sinal (integração), a velocidade da bomba peristáltica (introdução de amostra) e o ciclo de lavagem do equipamento. Nesta fase, foram definidas gamas temporárias de trabalho e modos de leitura para cada elemento, com seis padrões e factor 8 (isto é, o padrão de topo corresponde a oito vezes a concentração do primeiro padrão), descritas na tabela 2.2, de forma a encontrar os limites de sensibilidade do equipamento. Foram ainda testados dois elementos adicionais, prata e chumbo, concluindo-se que, tendo em conta os requisitos legais, a sensibilidade obtida não permite a sua implementação no método.

Tabela 2.2: Gamas de trabalho e modo de leitura, por elemento, durante o processo de otimização instrumental

Elemento	Gama de trabalho	Modo de leitura	Linhas espectrais de emissão estudadas (nm)
Ag	5-40 µg/L	Axial	328,068; 338,289
Al	20-160 µg/L	Axial	167,079; 308,215; 396,152
B	20-160 µg/L	Axial	182,591; 208,959; 249,678; 249,773
Ba	5-40 mg/L	Axial	230,424; 233,527; 455,403; 493,409
Be	2-16 mg/L	Axial/Radial	234,851; 313,042; 313,107
Ca	5-40 mg/L	Radial	315,887; 393,366; 396,847; 422,673
Cd	20-160 µg/L	Axial	214,438; 226,502; 228,802
Co	20-160 µg/L	Axial	228,616; 230,786; 237,862; 238,892
Cr	5-40 µg/L	Axial	267,716; 283,563; 284,325; 357,869
Cu	10-80 µg/L	Axial	224,700; 324,754; 427,396
Fe	10-80 µg/L	Axial	238,204; 259,940
K	0,5-4 mg/L	Axial/Radial	766,490; 769,896
Li	1-8 µg/L	Axial	460,286; 610,362; 670,784
Mg	1-8 mg/L	Axial	279,553; 280,270; 285,213
Mn	5-40 µg/L	Axial	257,610; 259,373; 260,569; 293,930; 294,920
Mo	10-80 µg/L	Axial	202,030; 203,844; 204,598; 277,540
Na	5-40 mg/L	Axial	330,237; 588,995; 589,592
Ni	5-40 µg/L	Axial	216,556; 221,647; 231,604
P	20-160 µg/L	Axial	177,495; 178,284; 185,942; 213,618; 214,915
Pb	1-8 µg/L	Axial	168,215; 182,205; 216,999; 220,353; 261,418; 283,305
Si	5-40 µg/L	Axial/Radial	212,412; 221,667; 251,611
Sn	10-80 µg/L	Axial	189,989; 235,485; 283,999
Sr	5-40 µg/L	Axial/Radial	407,771; 421,552
V	10-80 µg/L	Axial	290,882; 292,402; 292,464; 313,071
Zn	20-160 µg/L	Axial/Radial	202,548; 206,2; 213,856

2.2.1. Otimização da potência do plasma e do fluxo principal de árgon

A potência do plasma é um parâmetro fundamental no desenvolvimento de um método analítico dado que é proporcional à energia do plasma que, sendo aumentada, permite ultrapassar as elevadas energias de ionização de elementos estáveis, dando origem a sinais mais intensos (apesar de também provocar uma subida do nível de ruído de fundo), permitindo assim o favorecimento de picos de emissão em detrimento de outros. Dado tratar-se de uma técnica multiparamétrica, o objetivo é a obtenção de um ponto de equilíbrio no qual os picos de emissão de elementos de mais difícil quantificação (nas matrizes em estudo) sejam mais intensos sem pôr em causa os limites desejados para outros elementos. Com o aumento da energia fornecida ao plasma, o fluxo de árgon do plasma deve ser aumentado de forma a manter o plasma estável.

Seguindo as recomendações do fabricante do espectrómetro, foram estudadas cinco combinações de potência do gerador RF e fluxo de gás do plasma: 1100W/12 L min⁻¹, 1150W/12 L min⁻¹, 1200W/12 L min⁻¹, 1250W/14 L min⁻¹ e 1300W/14 L min⁻¹ e após cada mudança de potência foi realizado um realinhamento da tocha de forma a obter os melhores resultados possíveis. Foram lidas três réplicas do padrão P3 (concentração 3x P1) e apresenta-se em baixo (figuras 2.2 a 2.5) a variação em percentagem da média das três leituras para cada elemento (em relação à leitura na potência mais baixa – 1100W). Para a generalidade dos elementos verificaram-se ganhos de sinal consideráveis com o aumento da potência e fluxo de gás (cerca de 22,5% para fósforo e níquel), com exceção do lítio e do potássio que, sendo elementos facilmente ionizáveis, com o aumento da carga iónica no plasma associado ao aumento da potência RF, o equilíbrio entre as formas iónica e elementar destes elementos é deslocado em favor da forma elementar^[11], onde se verificou uma ligeira perda de sinal com o aumento da potência após 1150 W (cerca de 2,2%), conforme ilustrado abaixo nas figuras 2.2 a 2.5.

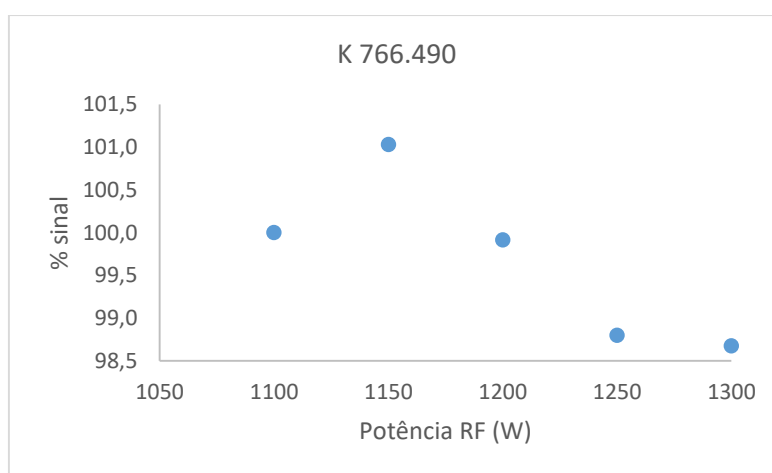


Figura 2.2: Variação em percentagem da intensidade de sinal com a potência RF para a linha de emissão de potássio

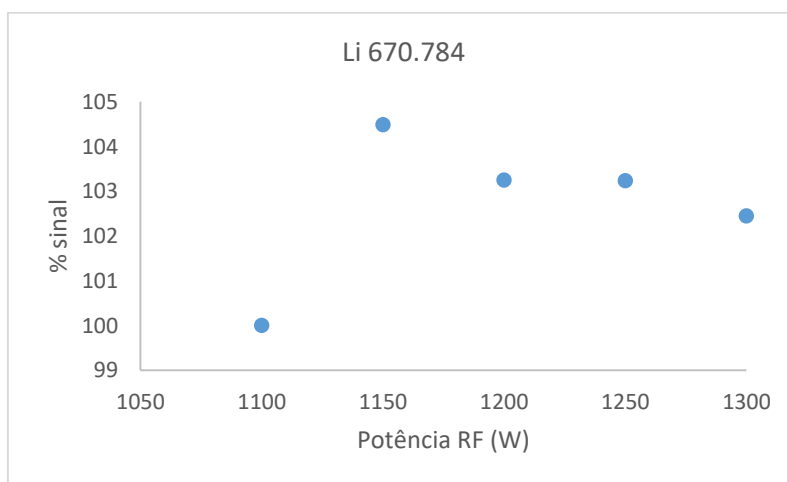


Figura 2.3: Variação em percentagem da intensidade de sinal com a potência RF para a linha de emissão de lítio

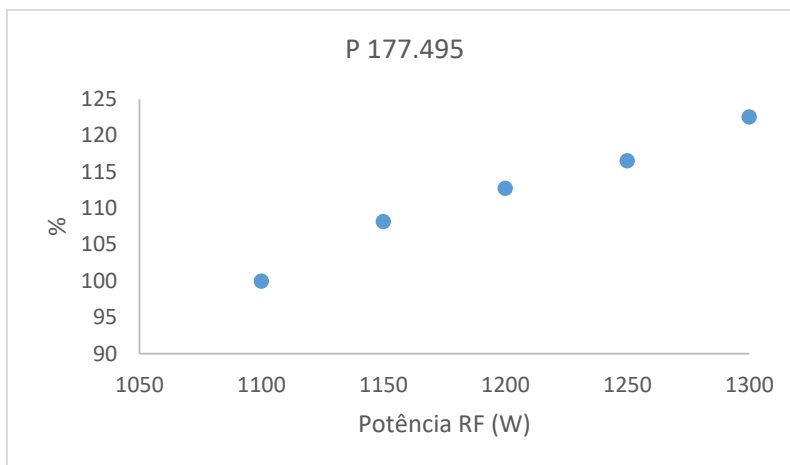


Figura 2.4: Variação em percentagem da intensidade de sinal com a potência RF para a linha de emissão de fósforo

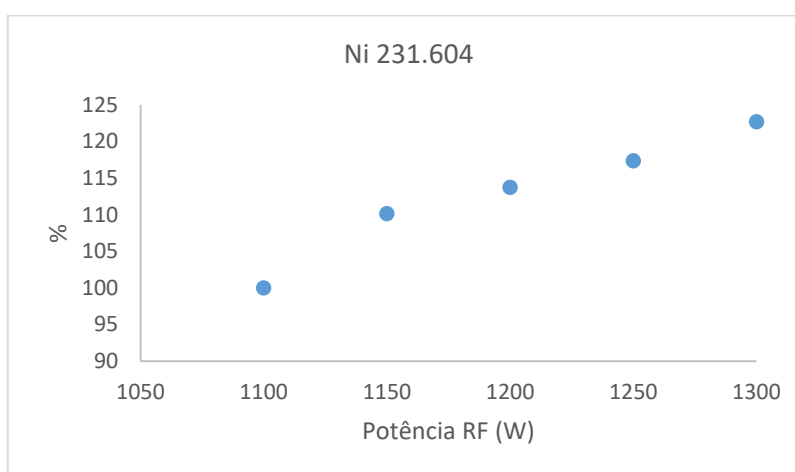


Figura 2.5: Variação em percentagem da intensidade do sinal com a potência RF para a linha de emissão de níquel

Com base nos resultados obtidos, optou-se por definir a potência RF de trabalho do método a 1300 W e o fluxo de argônio do plasma a 14 L min^{-1} , justificando-se o maior consumo de argônio com a performance analítica acrescida para elementos como Al, Cd, Co, Mo, Ni, P, Sn, permitindo a obtenção de sinais mais robustos nas gamas de trabalho pretendidas para estes elementos. Foi sacrificada alguma sensibilidade nas linhas de emissão de lítio e potássio mas tal não comprometeu os limites desejados para ambos os elementos. Os gráficos de variação de sinal dos restantes elementos podem ser consultados no Anexo I.

2.2.2. Otimização dos tempos de aquisição de sinal

A otimização do período de aquisição de sinal foi estudada para quatro modos de aquisição: axial UV, axial visível, radial UV e radial visível, sendo que a divisão entre a zona UV e a zona visível do detetor se situa a cerca de 230 nm. O modo radial UV foi posteriormente eliminado do método analítico de forma a reduzir o tempo de análise por amostra (com os tempos de integração selecionados, o módulo UV é lido durante 10s por réplica ou 30s por amostra). Esta otimização teve como objetivo tornar os sinais obtidos mais reproduzíveis, melhorando a razão sinal-ruído e obtendo consequentemente resultados com menor dispersão.

Foram feitas leituras de três padrões (P1, P3 e P6), cada uma repetida três vezes, sendo apresentada a média de RSD obtida para as três leituras nas figuras 2.6 a 2.9. Para as linhas lidas em modo radial visível, observou-se uma ligeira melhoria no desvio padrão relativo (RSD) entre 5 e 10s de tempo de integração para a linha de emissão de sódio (figura 2.6).

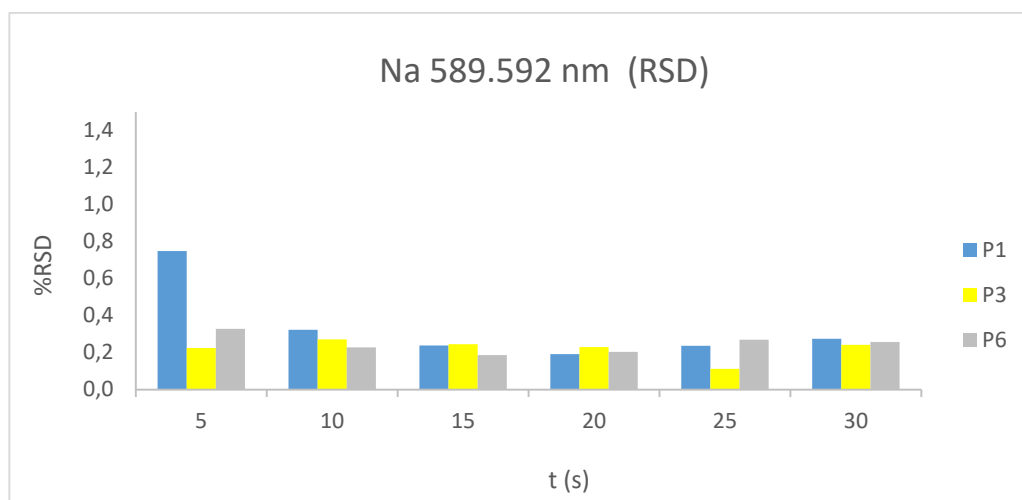


Figura 2.6: Variação de RSD com o aumento do tempo de integração para a linha analítica de emissão de sódio

Para as linhas lidas em modo axial, observaram-se melhorias significativas de performance analítica com o aumento do tempo de integração, com reduções de RSD consideráveis para linhas de emissão com menor sensibilidade, quer na zona ultravioleta quer na zona visível do espectro (figuras 2.7, 2.8 e 2.9)

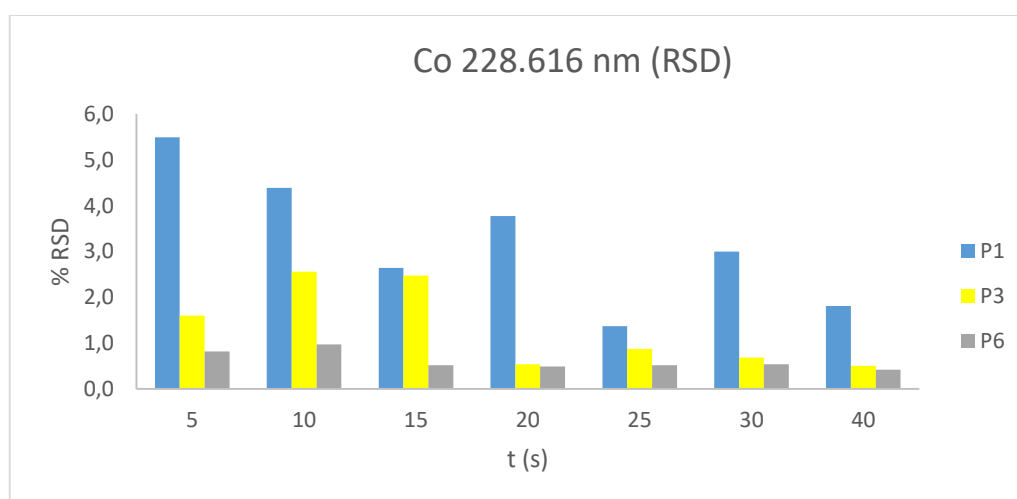


Figura 2.7: Variação de RSD com o aumento do tempo de integração para a linha analítica de emissão de cobalto

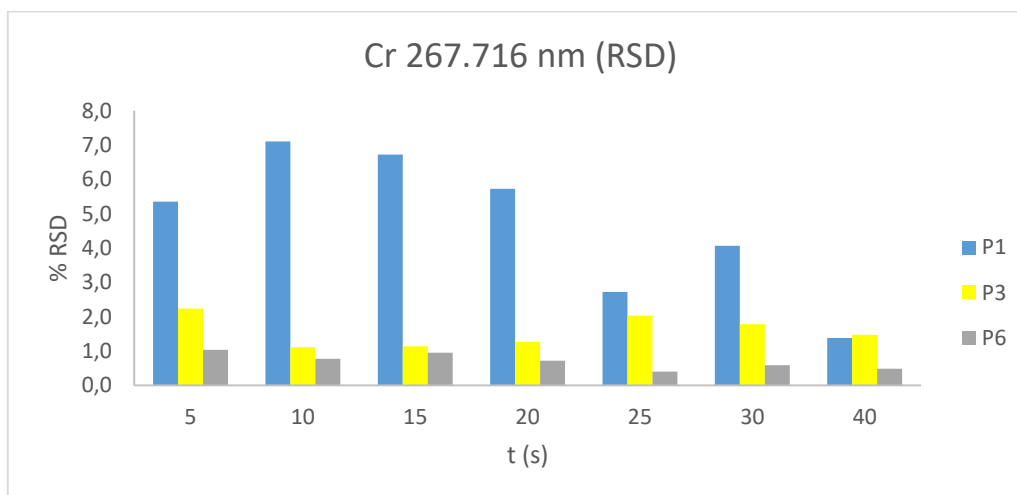


Figura 2.8: Variação de RSD com o aumento do tempo de integração para a linha analítica de emissão de crómio

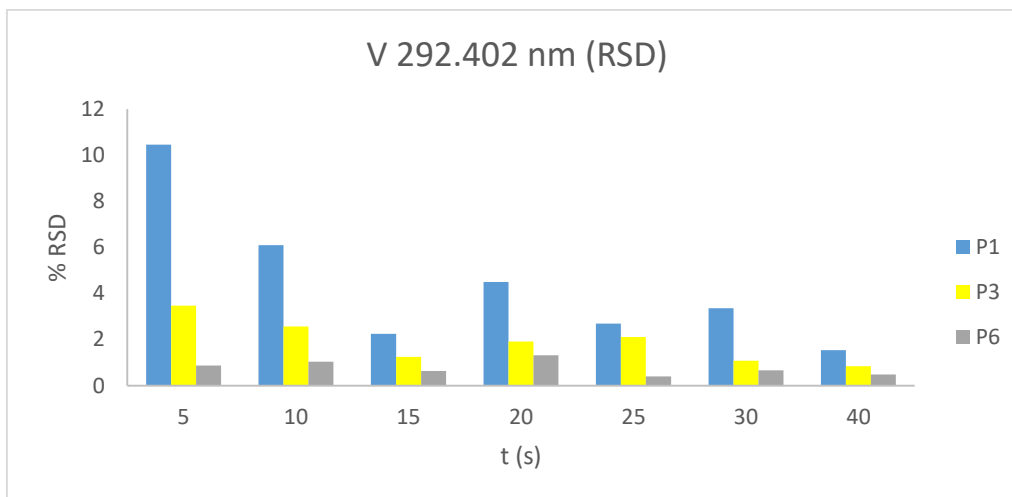


Figura 2.9: Variação de RSD com o aumento do tempo de integração para a linha analítica de emissão de vanádio

Com base nos resultados obtidos, dado o volume de amostras processado pelo laboratório, optou-se por um compromisso entre os RSD obtidos e o tempo de análise por amostra, definindo-se os seguintes tempos de integração: 10s em modo radial visível e 25s nos modos axial UV e axial visível (como referido anteriormente, o módulo correspondente à zona radial UV foi eliminado do método, com passagem das linhas de emissão correspondentes para modo axial). Os restantes gráficos podem ser consultados no Anexo II.

2.2.3. Otimização da velocidade da bomba peristáltica

Outro parâmetro com importância elevada para a performance do método analítico é a velocidade da bomba peristáltica, que deverá assegurar um fluxo de entrada de amostra regular na câmara de nebulização e um volume de analito adequado para as condições instrumentais do método analítico.

Foram estudadas quatro velocidades de rotação diferentes (40, 45, 50 e 55 rpm), de forma análoga aos parâmetros instrumentais anteriores, analisando três soluções de dois padrões diferentes (P1 e P2), observando-se melhorias a nível da intensidade de sinal e redução dos RSD, sendo que no caso da intensidade de sinal o valor ideal na maior parte dos casos se situa nos 45 rpm (figuras 2.10 a 2.13).

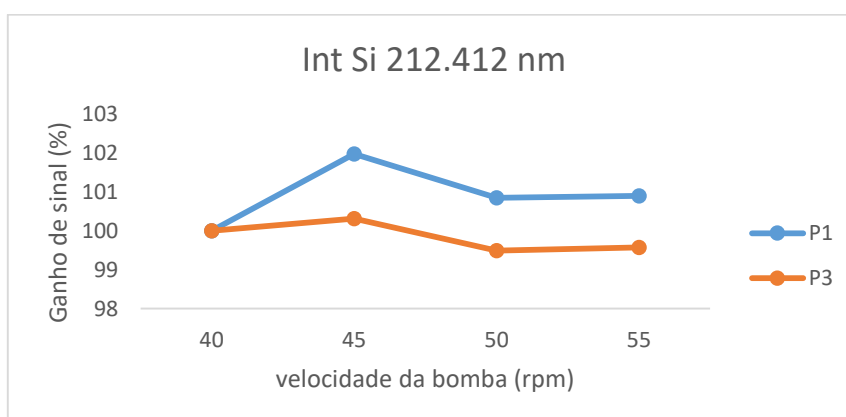


Figura 2.10: Variação de intensidade com o aumento da velocidade da bomba peristáltica para a linha analítica de emissão de silício

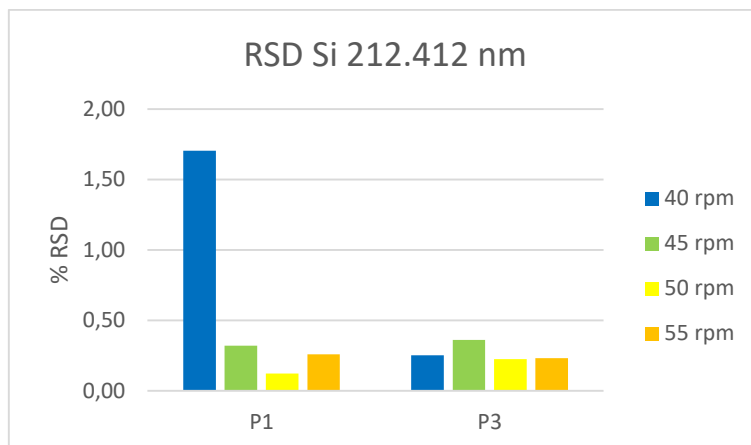


Figura 2.11: Variação de RSD com o aumento da velocidade da bomba peristáltica para a linha analítica de emissão de silício

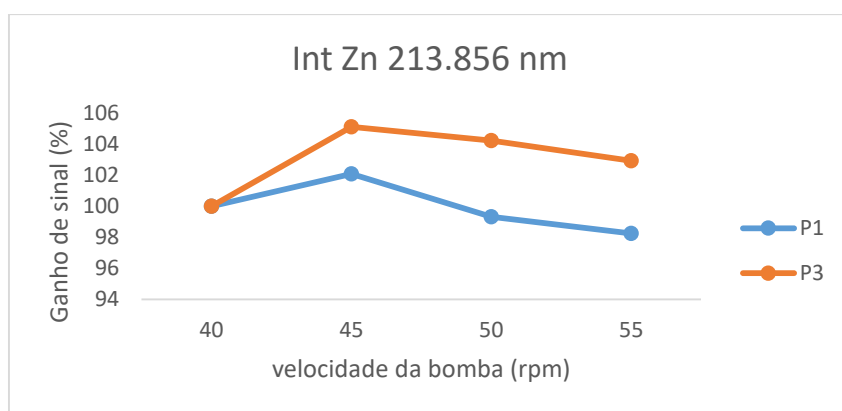


Figura 2.12: Variação de intensidade com o aumento da velocidade da bomba peristáltica para a linha analítica de emissão de zinco

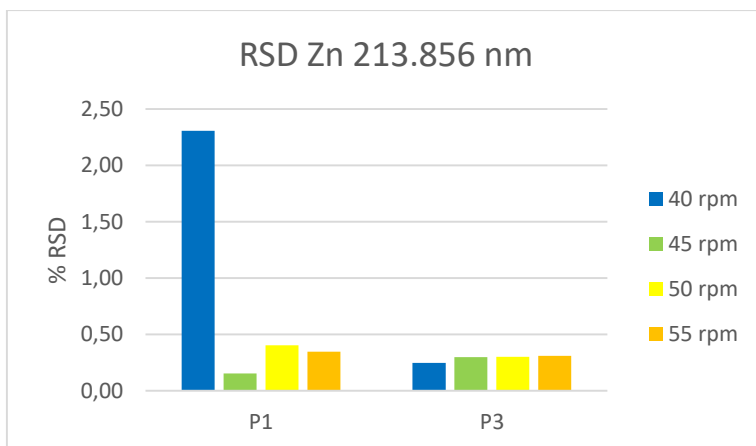


Figura 2.13: Variação de RSD com o aumento da velocidade da bomba peristáltica para a linha analítica de emissão de zinco

Optou-se consequentemente por definir a velocidade de rotação da bomba peristáltica no método analítico a 45 rpm. Os restantes gráficos deste processo de otimização podem ser consultados no Anexo III.

Após estes processos de otimização, foram descartadas linhas com performance inadequada para o método de ensaio e foram revistas as gamas de concentração de lítio e níquel para, respetivamente, 2 a 16 µg/L e 6 a 48 µg/L. Por último, definiu-se que, para assegurar a

qualidade do nebulizado (devendo este ser uniforme e apresentar um tamanho de gotícula reduzido), a pressão do nebulizador deve situar-se entre 180 e 250 kPa.

2.2.4. Otimização dos ciclos de entrada de amostra e lavagem do equipamento

Para um método de análise automatizado em modo contínuo, é também importante assegurar que a entrada de amostras com analitos presentes em concentrações elevadas não interfere com a leitura das restantes análises devido a efeitos de memória, razão pela qual se investigou a capacidade de remoção de cada analito após a leitura de cada amostra, para determinar as concentrações mínimas de analito susceptíveis de influenciar a análise da amostra seguinte, sendo este estudo efetuado com três tempos de lavagem (45, 60 e 75s). Previamente, foi definida uma concentração constante de 5% de ácido nítrico em água na solução de lavagem, não sendo alvo de estudo a variação no teor de ácido da solução de lavagem. Foram então lidos brancos intercalados com 3 padrões com concentrações correspondentes a P6, P6*10 e P6*50, sendo este procedimento repetido três vezes, averiguando-se, em cada caso, se a diferença entre os valores lidos para cada linha de emissão em brancos lidos após e antes de cada solução é superior a 10% em relação ao valor de sinal para uma solução P1 (critério definido para significância do efeito de memória), apresentando-se os resultados nas tabelas 2.3, 2.4 e 2.5. Entre cada análise feita foram lidos brancos para assegurar que o valor de branco original não apresenta efeito de memória.

Tabela 2.3: Alterações de sinal, em % do valor lido em P1, causados por efeito de memória, com tempo de lavagem de 45 segundos

Razão $Br_{(ant)}/Br_{(post)}$, em função de P1 (%), $t = 45s$				
Elementos	P6	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6*10	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6*50
Ca	40 mg/L	0,0	0,9	2,3
Mg	8 mg/L	0,1	1,0	4,6
Na	40 mg/L	0,9	0,0	8,3
K	4 mg/L	0,0	0,0	2,7
Si	12 mg/L	0,1	2,9	34,2
Al (167,079 nm)	160 µg/L	-0,5	0,8	11,6
Al (396,152 nm)	160 µg/L	-0,3	0,6	11,5
B (249,773 nm)	160 µg/L	2,2	13,9	98,1
B (249,678 nm)	160 µg/L	0,0	0,0	94,3
Ba	40 µg/L	0,0	0,0	4,5
Be	16 µg/L	0,2	1,2	11,1
Cd	8 µg/L	-1,3	-1,3	9,4
Co	40 µg/L	0,0	0,0	6,4
Cr	40 µg/L	-1,9	0,6	11,7
Cu	80 µg/L	0,0	-0,1	11,9
Fe	80 µg/L	-1,4	-0,1	12,0
Li	16 µg/L	0,0	0,0	8,6
Mn	40 µg/L	0,0	0,0	10,2
Mo	80 µg/L	-0,6	13,3	105,5
Ni	48 µg/L	2,2	5,0	10,2
P	160 µg/L	1,3	2,3	11,5
Sn	80 µg/L	-1,8	2,0	11,5
Sr	40 µg/L	-0,1	0,7	10,8
V	80 µg/L	3,7	3,7	19,1
Zn	160 µg/L	-0,3	0,8	10,4

Tabela 2.4: Alterações de sinal, em % do valor lido em P1, causados por efeito de memória, com tempo de lavagem de 60 segundos

Razão $Br_{(ant)}/Br_{(post)}$, em função de P1 (%), t = 60s				
Elementos	P6	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6*10	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6*50
Ca	40 mg/L	0,0	0,9	2,0
Mg	8 mg/L	0,0	1,0	3,5
Na	40 mg/L	0,0	0,4	8,5
K	4 mg/L	0,0	0,0	2,9
Si	12 mg/L	.0,1	2.4	26,3
Al (167,079 nm)	160 µg/L	0,9	0,2	8,2
Al (396,152 nm)	160 µg/L	0,9	-0,6	9,4
B (249,773 nm)	160 µg/L	-2,3	3,4	71,0
B (249,678 nm)	160 µg/L	-2,2	2,2	72,6
Ba	40 µg/L	0,0	0,0	4,6
Be	16 µg/L	-0,1	1,1	10,8
Cd	8 µg/L	0,0	1,4	9,7
Co	40 µg/L	0,0	0,0	5,6
Cr	40 µg/L	0,7	-0,2	10,1
Cu	80 µg/L	0,6	-4,2	7,7
Fe	80 µg/L	-0,1	0,3	10,5
Li	16 µg/L	0,0	0,0	8,5
Mn	40 µg/L	0,0	0,0	10,2
Mo	80 µg/L	3,5	9,6	92,7
Ni	48 µg/L	-1,4	2,5	6,9
P	160 µg/L	-2,6	1,8	11,1
Sn	80 µg/L	1,0	1,8	4,6
Sr	40 µg/L	0,1	0,7	11,1
V	80 µg/L	0,5	6,7	28,7
Zn	160 µg/L	1,8	0,2	8,7

Tabela 2.5: Alterações de sinal, em % do valor lido em P1, após leitura de soluções multielementares de concentração crescente, com tempo de lavagem de 75 segundos

Razão $Br_{(ant)}/Br_{(post)}$, em função de P1 (%), $t = 75s$				
Elementos	P6	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6*10	$Br_{(ant)}/Br_{(post)}$ P6*50
Ca	40 mg/L	-0,2	0,6	3,2
Mg	8 mg/L	0,1	0,8	6,8
Na	40 mg/L	0,0	0,2	9,2
K	4 mg/L	0,0	0,0	3,7
Si	12 mg/L	0,1	2,1	24,2
Al (167,079 nm)	160 µg/L	-0,1	0,1	8,2
Al (396,152 nm)	160 µg/L	0,4	2,2	9,7
B (249,773 nm)	160 µg/L	-2,1	4,2	65,1
B (249,678 nm)	160 µg/L	-0,8	3,2	81,7
Ba	40 µg/L	-0,5	3,1	10,6
Be	16 µg/L	-0,1	0,5	11,5
Cd	8 µg/L	-0,8	-0,8	11,4
Co	40 µg/L	0,0	0,0	3,1
Cr	40 µg/L	2,6	2,3	12,2
Cu	80 µg/L	3,1	1,0	8,3
Fe	80 µg/L	-0,5	1,2	11,5
Li	16 µg/L	0,0	0,0	9,8
Mn	40 µg/L	0,0	0,0	10,8
Mo	80 µg/L	2,4	8,8	83,0
Ni	48 µg/L	5,7	5,1	12,9
P	160 µg/L	1,9	-1,8	10,9
Sn	80 µg/L	1,9	4,8	11,7
Sr	40 µg/L	0,2	0,6	12,3
V	80 µg/L	0,9	-1,8	16,7
Zn	160 µg/L	-0,8	-0,1	9,3

Os melhores resultados foram obtidos com um tempo de lavagem de 75s, observando-se melhorias importantes na remoção de elementos com elevado efeito de memória, como o boro e o molibdénio, pelo que se optou por definir o tempo de lavagem em 75s. Para este tempo de lavagem, o método garante que, para todos os elementos, soluções com concentrações até dez vezes superiores ao padrão de topo da gama não existe efeito de memória apreciável.

Para definição do ciclo de entrada de amostra (o tempo que o espectrómetro aguarda antes de começar a leitura) foi cronometrado o tempo de entrada de amostra no aparelho (cerca de 30s), acrescentando-se 15 segundos para permitir a estabilização do plasma após a entrada de amostra, ficando definido em 45s. Definiram-se assim os parâmetros de funcionamento do equipamento, de acordo com a tabela 2.6.

Tabela 2.6: Parâmetros de funcionamento para o espectrómetro Thermo Fischer iCAP™ 7400

Potência	1300 W
Fluxo principal de árgon	14 L min ⁻¹
Fluxo secundário de árgon	0,5 L min ⁻¹
Pressão de nebulizador	180 a 250 kPa
Velocidade da bomba peristáltica	45 rpm
Tempo de integração (Axial UV, Axial visível, Radial visível)	25/25/10 s
Ciclo de entrada de amostra (uptake)	45 s
Ciclo de lavagem	75 s

2.3: Seleção de linhas analíticas

Para o desenvolvimento de um método analítico para ICP-OES, é fundamental selecionar linhas de emissão que não só apresentem sensibilidade nas gamas de concentração de analito relevantes mas também que não sofram fenômenos de interferência espectral por sobreposição de linhas de emissão de elementos presentes nas amostras analisadas e efeitos de matriz com impacto no sinal analítico. Em determinados casos, onde não existam linhas de emissão alternativa livres de interferências espectrais, ou estas sejam menos sensíveis, podem ser definidos critérios a nível da concentração de interferente (desde que o elemento interferente seja alvo de análise) que condicionem o uso de uma determinada linha analítica a amostras com concentrações inferiores ao limite definido. Foram também estudadas as linhas de emissão de escândio e ítrio, para potencial uso como padrão interno.

Após uma consulta da informação disponível na norma ISO 11885, na norma EPA 200.7^[12] e na biblioteca de espectros do software analítico Qtegra™, foram escolhidas as linhas espectrais descritas na tabela 2.7, para determinação da sua sensibilidade e posterior estudo de interferências. Esta seleção foi efetuada em simultâneo com o processo de otimização das condições instrumentais.

Tabela 2.7: Linhas espectrais avaliadas para o método de ensaio

Elemento	Linhas espectrais de emissão estudadas (nm)	Modo de análise
Ag	328,068; 338,289	Axial
Al	167,079; 308,215; 396,152	Axial
B	182,591; 208,959; 249,678; 249,773	Axial
Ba	230,424; 233,527; 455,403; 493,409	Axial
Be	234,851; 313,042; 313,107	Axial
Ca	315,887; 393,366; 396,847; 422,673	Radial
Cd	214,438; 226,502; 228,802	Axial
Co	228,616; 230,786; 237,862; 238,892	Axial
Cr	267,716; 283,563; 284,325; 357,869	Axial
Cu	224,700; 324,754; 427,396	Axial
Fe	238,204; 259,940	Axial
K	766,490; 769,896	Radial
Li	460,286; 610,362; 670,784	Axial
Mg	279,553; 280,270; 285,213	Radial
Mn	257,610; 259,373; 260,569; 293,930; 294,920	Axial
Mo	202,030; 203,844; 204,598; 277,540	Axial
Na	330,237; 588,995; 589,592	Radial
Ni	216,556; 221,647; 231,604	Axial
P	177,495; 178,284; 185,942; 213,618; 214,915	Axial
Pb	168,215; 182,205; 216,999; 220,353; 261,418; 283,305	Axial
Sc	201,768; 203,079; 255,237; 256,025; 357,253; 363,075; 364,279	Axial e Radial
Si	212,412; 221,667; 251,611	Axial e Radial
Sn	189,989; 235,485; 283,999	Axial
Sr	407,771; 421,552	Axial
V	290,882; 292,402; 292,464; 313,071	Axial
Y	224,306; 242,220; 320,332; 324,228	Axial e Radial
Zn	202,548; 206,200; 213,856	Axial e Radial

Em consequência do processo de otimização instrumental, foi decidido, de forma a encurtar o tempo de análise de cada amostra, eliminar o módulo de análise na zona UV do espectro em modo radial, passando as linhas de Si e Zn para modo axial.

Foram então definidas gamas de trabalho (tabela 2.8), com base nos limites legais previstos em diretivas nacionais e europeias para águas superficiais e de consumo, para estudo da sensibilidade (critério definido por uma razão sinal/ruído igual ou superior a 3 para o padrão mais baixo) das linhas de emissão selecionadas, já com as condições instrumentais otimizadas, sendo analisadas, de forma sequencial, uma solução branco e seis soluções de concentração crescente (LQ, 2x, 3x, 4x, 6x e 8x), excluindo-se neste passo a possibilidade de analisar Ag e Pb

neste método de ensaio devido ao facto de o sinal analítico não ser suficientemente robusto para a gama de concentrações pretendida.

Tabela 2.8: Sensibilidade das linhas de emissão

Elemento	LQ provisório	Sensibilidade	LQ para validação	Unidades
Ca	5	S	5	mg/L
K	0,5	S	1	mg/L
Mg	1	S	1	mg/L
Na	5	S	5	mg/L
Si	1,5	S	1,5	mg/L
Ag	5	N	-	µg/L
Al	20	S	20	µg/L
B	20	S	20	µg/L
Ba	5	S	5	µg/L
Be	1	S	2	µg/L
Cd	1	S	1,5	µg/L
Co	5	S	5	µg/L
Cr	5	S	5	µg/L
Cu	10	S	10	µg/L
Fe	10	S	20	µg/L
Li	2	S	2	µg/L
Mn	5	S	5	µg/L
Mo	5	S	10	µg/L
Ni	6	N	10	µg/L
P	20	S	25	µg/L
Pb	10	N	-	µg/L
Sn	10	S	10	µg/L
Sr	5	S	5	µg/L
V	5	S	10	µg/L
Zn	20	S	20	µg/L

Optou-se por subir os limites de quantificação de K devido à necessidade de estender a gama de trabalho para concentrações mais elevadas tendo em conta a distribuição das concentrações de K das amostras analisadas no laboratório, assim como as gamas de Cd, Mo, Ni, P e V, de forma a obter um sinal mais sólido e reprodutível.

2.4: Estudo de interferências espectrais e efeitos de matriz

Após a definição de gamas de trabalho para cada elemento, realizou-se então um estudo de onze elementos interferentes comuns (Al, B, Ba, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, Si, Zn) em águas de consumo e superficiais, sendo também estudados Sc e Cs para uso, respetivamente, como padrão interno e supressor iónico (tabela 2.9), analisando-se um padrão com todos os elementos à exceção do elemento interferente em estudo (cada interferente foi estudado individualmente), com concentrações de cada elemento correspondentes aos dois padrões de concentração mais baixa da gama de trabalho (P1 e P2), sendo analisadas soluções desse padrão com concentrações crescentes de elemento interferente, de forma a garantir a ausência de desvios derivados de

efeitos de interferência para concentrações plausíveis de interferentes presentes em amostras reais (baseados em valores anteriormente reportados pelo laboratório central da EPAL).

Tabela 2.9: Concentrações de interferentes espectrais estudadas

Elemento interferente	Gama de concentração de interferente
Al	0-2000 µg/L
B	0-1000 µg/L
Ba	0-1000 µg/L
Ca	0-200 mg/L
Cs	0-100 mg/L
Fe	0-2000 µg/L
K	0-75 mg/L
Mg	0-100 mg/L
Mn	0-750 µg/L
Na	0-300 mg/L
Sc	0-10 mg/L
Si	0-50 mg/L
Zn	0-2000 µg/L

Foram comparadas as contagens por segundo obtidas para cada solução, relativas ao valor obtido para a solução sem interferente adicionado, verificando-se a existência de interferências positivas e negativas, considerando-se impeditivas as que apresentem tendências negativas ou positivas claras que ultrapassem 9% de variação de sinal (razão $P_{n,x}/P_{n,0}$). Apresentam-se exemplos de interferências detetadas nas figuras 2.14 e 2.15 (restantes gráficos disponíveis no anexo IV) e uma lista das interferências espectrais detetadas neste estudo na tabela 2.10 (informação complementar presente no Anexo IV).

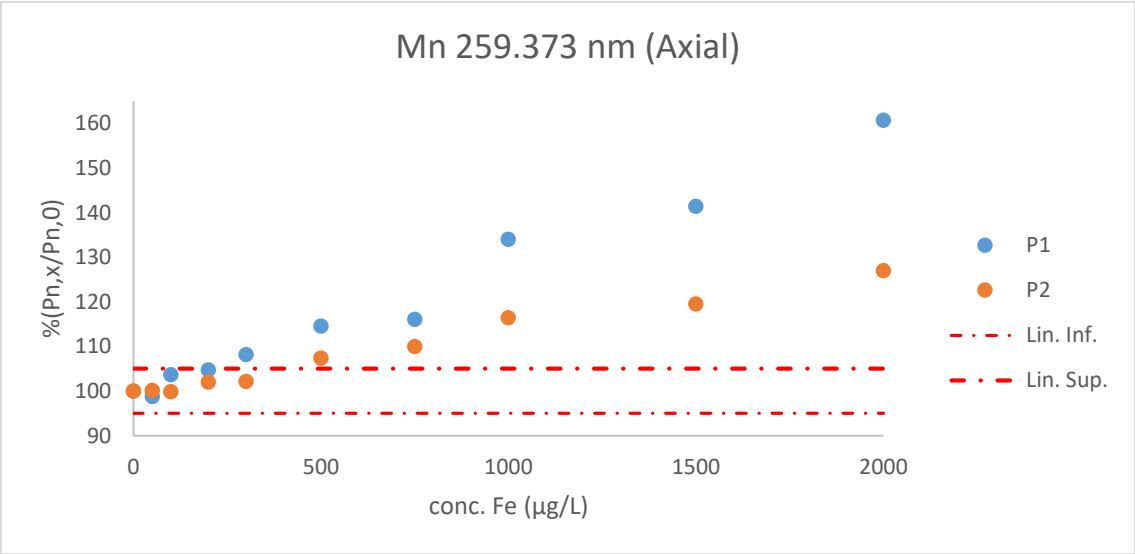


Figura 2.14: Interferência positiva (espectral) devida ao impacto de uma linha de emissão de ferro na linha de emissão de manganês a 259,373 nm

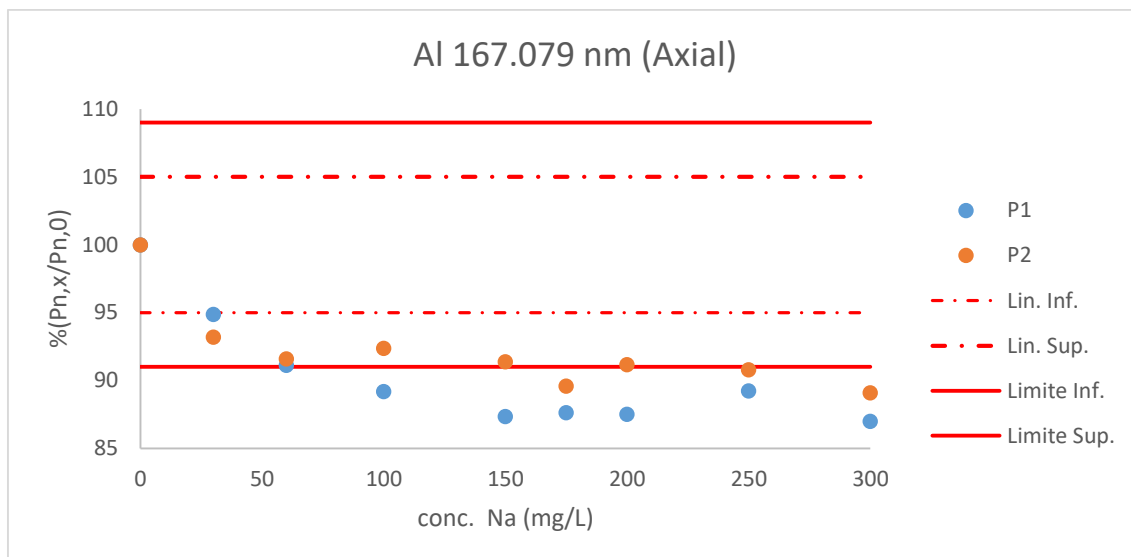


Figura 2.15: Interferência negativa (efeito de matriz) devida a concentrações elevadas de sódio na linha de emissão de alumínio a 167.079 nm

Tabela 2.10: Efeito das interferências espectrais nas linhas de emissão

Elemento interferente	Linhas de emissão afetadas	Ausência de efeito interferente
Al	-	-
B	-	-
Ba	Cd 214,438 nm	$\leq 500 \mu\text{g/L}$
Ca	Sc 363,075 nm	Presente em toda a gama
Cs	-	-
Fe	1) B 249,773 nm 2) Mn 259,375 nm 3) Sc 256,025 nm	1) $\leq 1000 \mu\text{g/L}$ 1) $\leq 200 \mu\text{g/L}$ 2) $\leq 50 \mu\text{g/L}$
K	-	-
Mg	1) Mo 203,844 nm 2) V 292,464 nm	1) $\leq 25 \text{ mg/L}$ 2) Presente em toda a gama
Mn	-	-
Na	-	-
Sc	-	-
Si	Ni 221,647 nm	Presente em toda a gama
Zn	-	-

Adicionalmente, verificaram-se ainda interferências nas zonas de integração dos picos (à esquerda e à direita das bandas de emissão), sendo estas solucionadas com o recurso a integração na área não afetada do espectro (exemplos nas figuras 2.16 e 2.17 – as zonas a verde claro correspondem às áreas de integração do sinal), desde que apenas uma das zonas laterais de integração seja afetada.

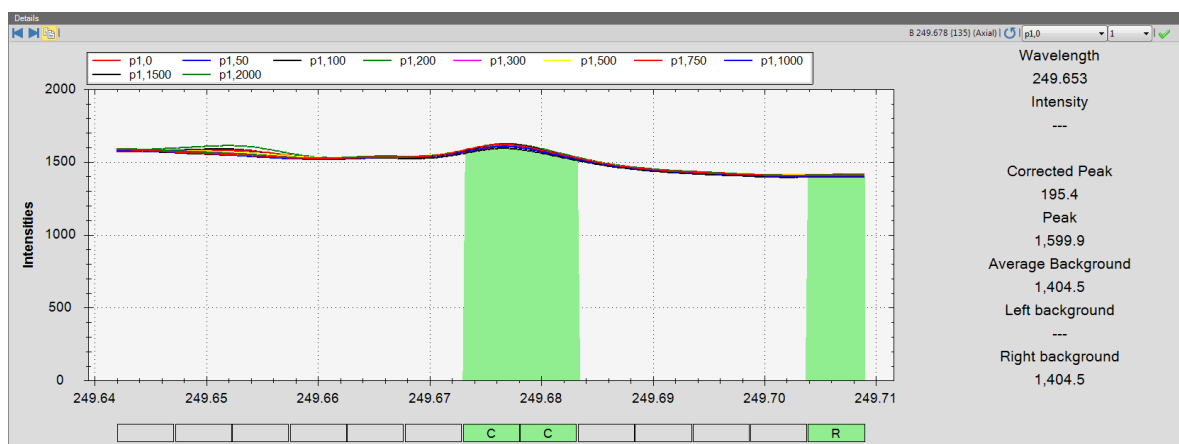


Figura 2.16: Espectro de emissão de boro a 249,678 nm em modo de leitura axial com presença de interferência espectral na zona de integração à esquerda da linha de emissão

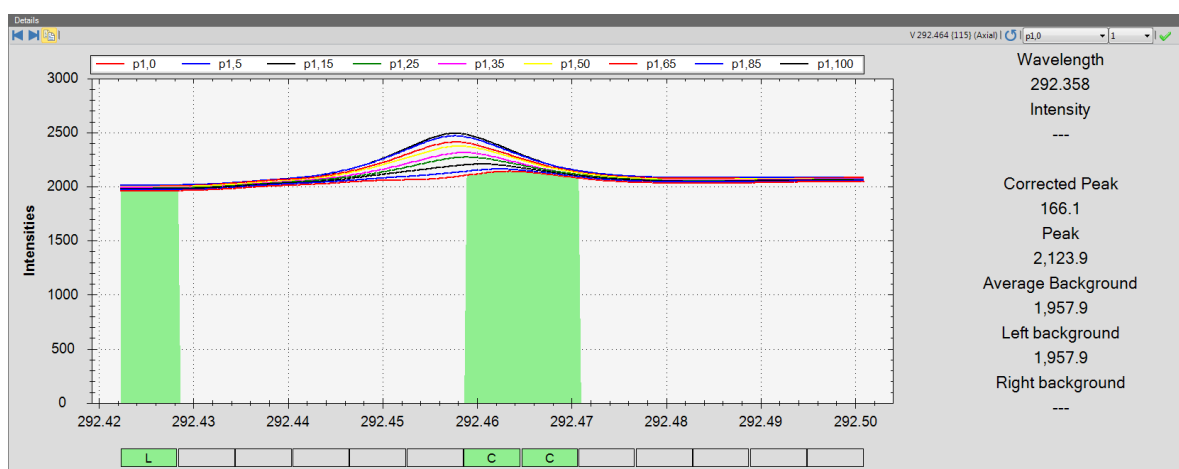


Figura 2.17: Espectro de emissão de vanádio a 292,464 nm em modo de leitura axial com sobreposição da linha de emissão de interferente e analito

No decorrer deste estudo, foram também detetadas interferências devidas a efeitos de matriz para concentrações elevadas de elementos facilmente ionizáveis (EIE), notando-se efeitos de supressão de sinal na presença de concentrações mais elevadas de Ca, K, Mg, Na e Si (exemplos nas figuras 2.18, 2.19 e 2.20).

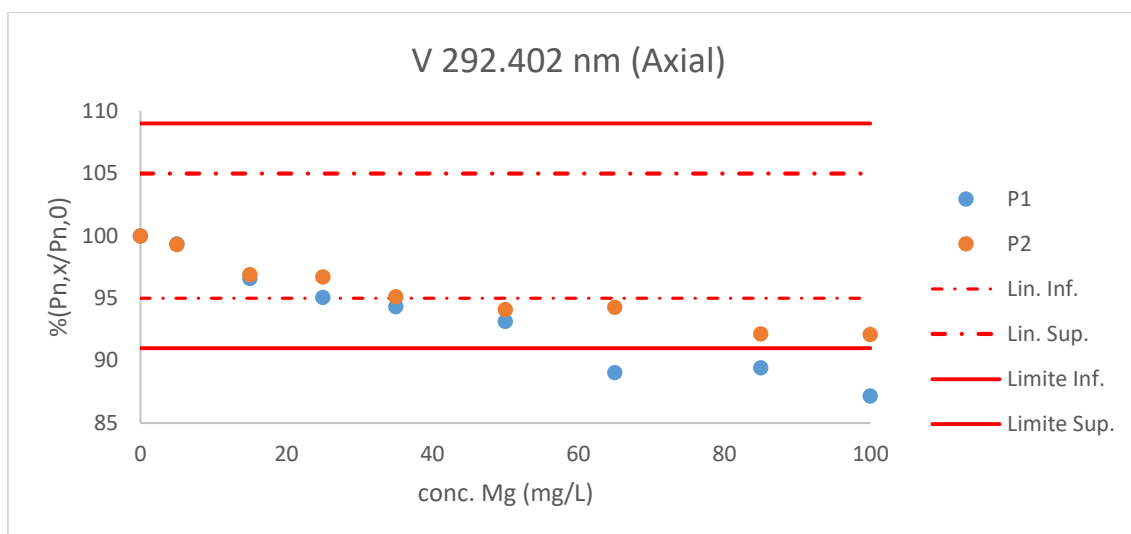


Figura 2.18: Interferência negativa (efeito de matriz) devida a concentrações elevadas de magnésio na linha de emissão de vanádio a 292,402 nm (10/20 $\mu\text{g/L}$)

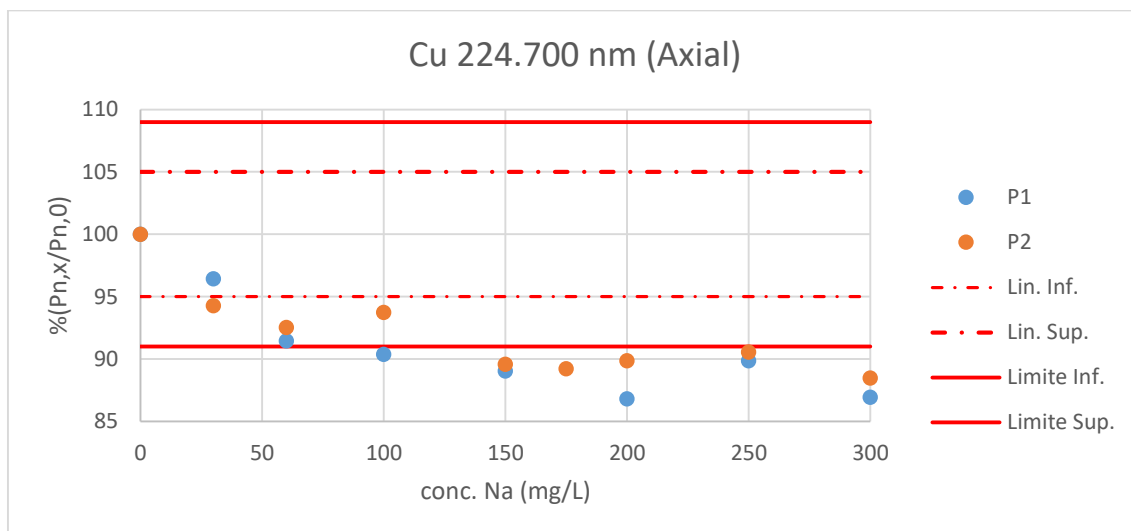


Figura 2.19: Interferência negativa (efeito de matriz) devida a concentrações elevadas de sódio na linha de emissão de cobre a 224.700 nm (10/20 $\mu\text{g/L}$)

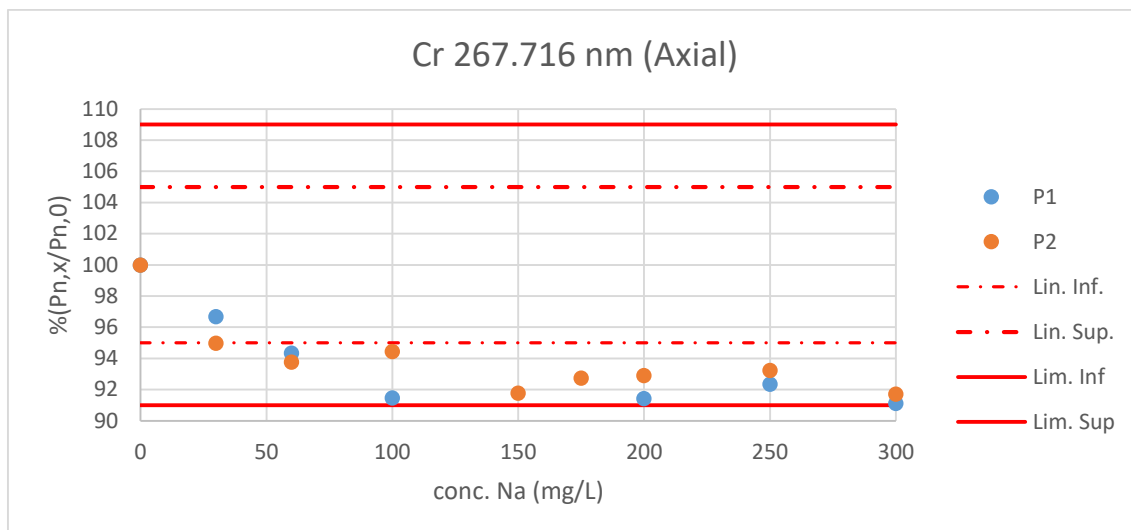


Figura 2.20: Interferência negativa (efeito de matriz) devida a concentrações elevadas de sódio na linha de emissão de crômio a 267.716 nm (5/10 µg/L)

Em face dos resultados obtidos e dos níveis usuais de EIE's em amostras analisadas em laboratório (ver anexo VI), o método analítico foi alterado com a adição de padrão interno, concluindo-se serem necessários 10 mg/L de Sc de forma a obter sinais robustos nos picos de emissão de Sc na zona UV, em modo axial e radial, sendo para esse fim instalado no aparelho mais um tubo de entrada ($d = 0,381$ mm) para adição de padrão interno (escândio a 10 mg/L), com uma junção em T com o tubo de entrada de amostra ($d = 1,037$ cm) e um pequeno loop (cerca de 15 cm de comprimento) para assegurar a homogeneidade da amostra, reduzindo os efeitos de matriz e melhorando a performance do método analítico. Foram selecionadas quatro linhas de emissão de escândio para o estudo de correção por padrão interno (201,768; 203,079; 255,237 e 335,373 nm) sendo escolhidas linhas com ausência de efeitos de interferência (podendo ser integradas dos dois lados) e com sensibilidade suficiente para garantir um sinal estável.

Foi então estudado o impacto da correção dos resultados por padrão interno de forma semelhante ao estudo de interferências espectrais, mas adicionando quantidades crescentes de Ca, K, Mg e Na em simultâneo, verificando-se que, embora se tenha conseguido uma diminuição considerável do efeito de matriz provocado pelos EIE's, em alguns elementos o padrão interno não permitia a compensação adequada dos efeitos de matriz, sendo então estudada a adição de um supressor de efeito de ionização. Para este efeito, dissolveu-se cloreto de cézio na solução de padrão interno de forma a obter uma concentração de cézio de 100 mg/L. O cézio foi escolhido devido ao seu baixo potencial de 1ª ionização (5 kJ por mole) e por não provocar interferências espectrais. No entanto, observou-se que para esta concentração de cézio se formam depósitos de cézio no nebulizador provocando um aumento da pressão de nebulizador para valores superiores a 300 kPa (foi definido anteriormente que esta pressão não deveria ultrapassar 250 kPa). Sugere-se para uso futuro um estudo com menores concentrações de cézio para evitar este tipo de problemas.

Apresenta-se de seguida a variação dos sinais de padrão interno com matrizes com concentrações elevadas de EIE, verificando-se a supressão de sinal de modo análogo à observada na maioria das linhas de emissão do método (figuras 2.21 a 2.24) e os resultados mais notáveis obtidos após a adição de supressor iónico e correção dos resultados com padrão interno (figuras 2.26 a 2.30 – restantes gráficos presentes no anexo V). A correção dos resultados por

padrão interno é feita de forma automática pelo software Qtegra® de acordo com a equação 2.1, onde A é a concentração determinada de analito, sem correção, B a intensidade, lida em simultâneo, da linha de emissão do padrão interno selecionada e Bi a intensidade média apresentada pela linha durante as leituras dos padrões da reta de calibração.

$$\text{Equação 2.1: } c(A_{corr}) = c(A) * \frac{B}{Bi}$$

Conforme previsto, concentrações crescentes de EIE provocam supressão do sinal de escândio nas linhas selecionadas de forma semelhante ao seu efeito nas linhas analíticas (ver figuras 2.20 a 2.25), permitindo assim a compensação dos desvios provocados por efeitos de matriz. A utilização de padrão interno tem ainda outras vantagens, permitindo compensar alterações de matriz e conferindo maior estabilidade ao equipamento, possibilitando ciclos de leituras mais longos sem necessidade de recalibração do equipamento, e consequentemente apresentando ganhos a nível de precisão.

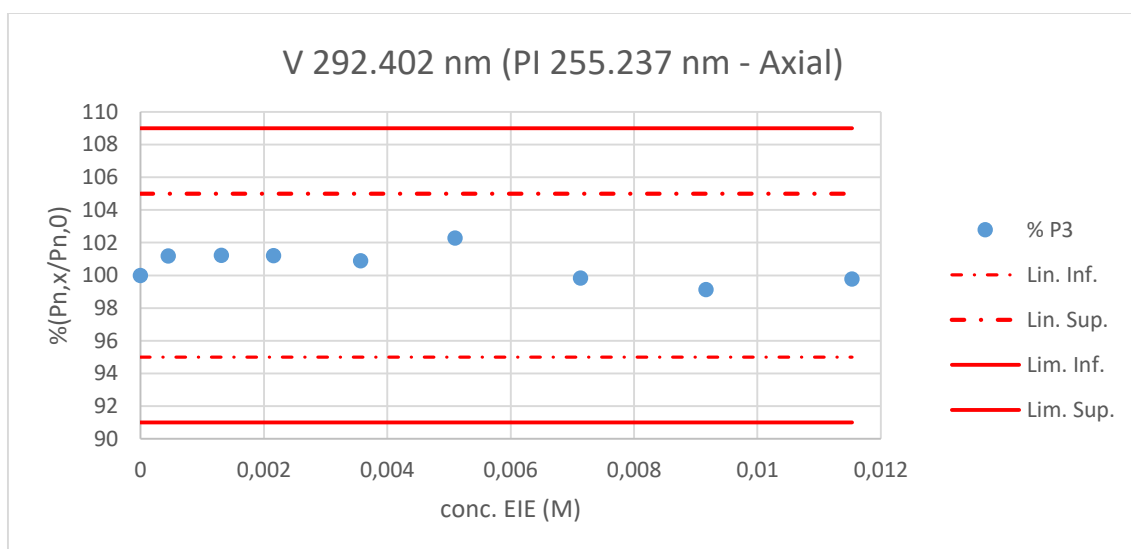


Figura 2.21: Variação percentual da intensidade da linha de vanádio (30 µg/L) com concentrações crescentes de EIE, após implementação de padrão interno e supressor iónico

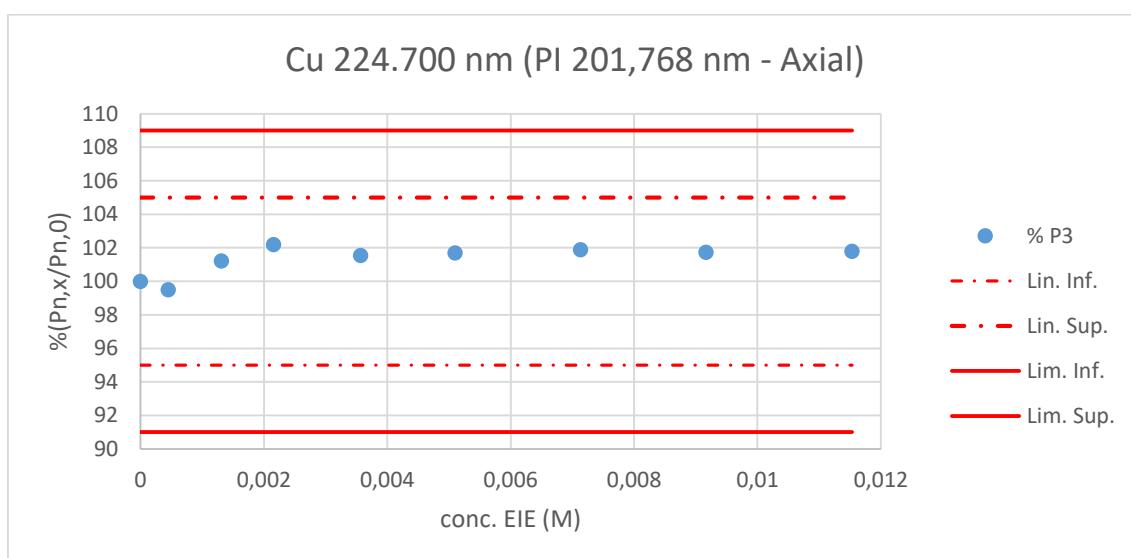


Figura 2.22: Variação percentual da intensidade da linha de emissão de cobre (30 µg/L) com concentrações crescentes de EIE, após implementação de padrão interno

No caso do crómio, (ver figura 2.23) a adição de supressor iónico é por si só suficiente para suprimir o efeito de matriz na gama estudada. No entanto, devido aos problemas verificados aquando da adição de cézio (acima referidos), optou-se por corrigir o efeito com padrão interno (figura 2.24).

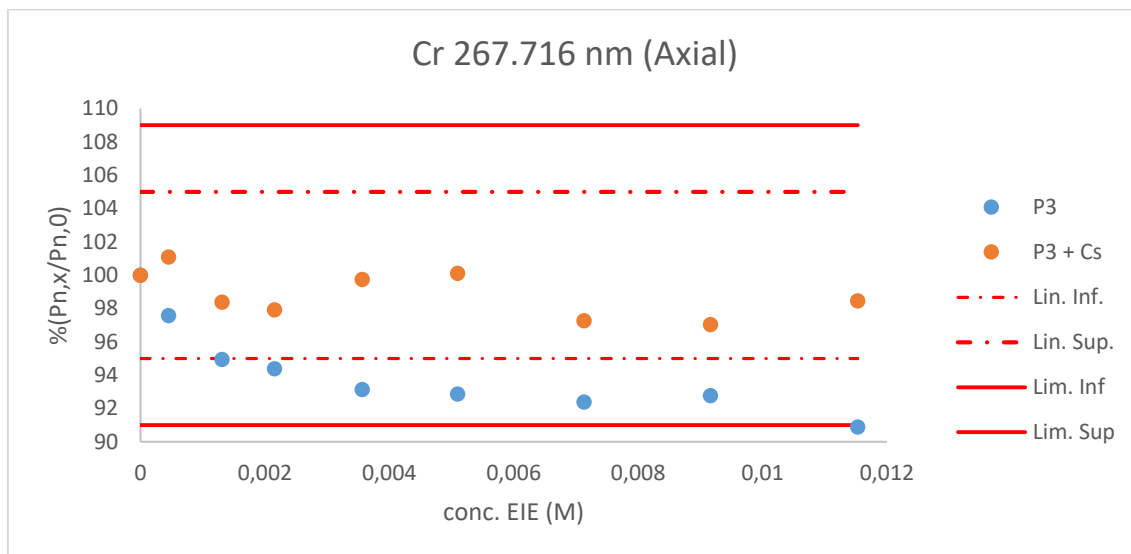


Figura 2.23: Efeito da adição de cézio na variação percentual da intensidade da linha de emissão de crómio (15 µg/L) a 267,716 nm com concentrações crescentes de EIE

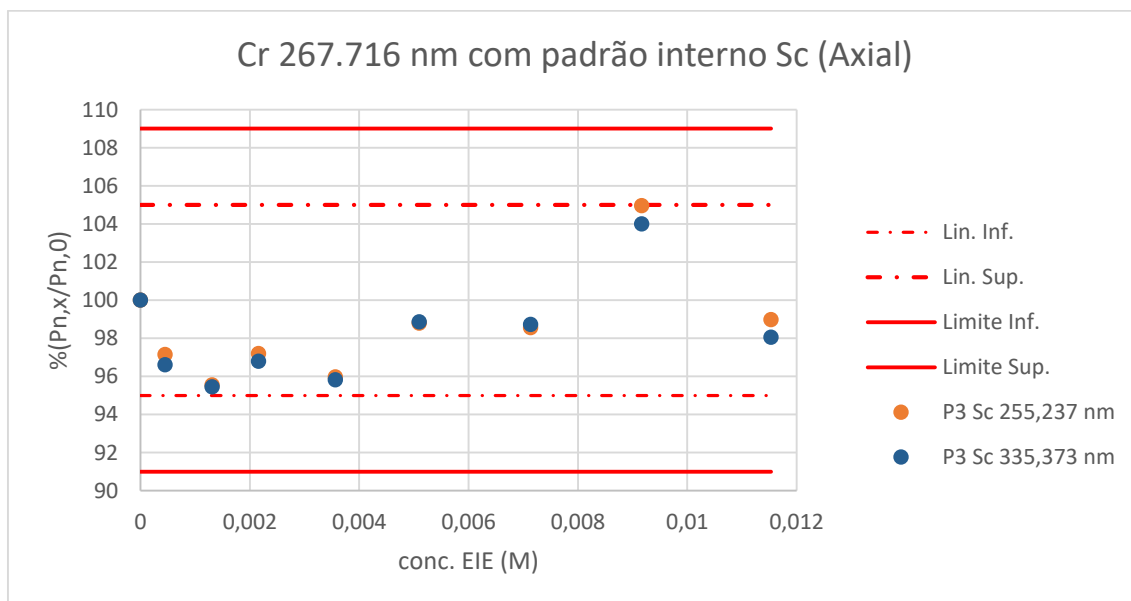


Figura 2.24: Variação percentual da intensidade da linha de emissão de crómio (15 µg/L) com concentrações crescentes de EIE, após implementação de padrão interno

Foram então selecionadas as linhas de emissão para uso no método de ensaio (ME) e as respetivas gamas de trabalho, conforme descritas respetivamente nas tabelas 2.11 e 2.12. No anexo IV encontram-se gráficos com o sinal analítico e as zonas de integração para cada uma das seguintes linhas, estando assim todas as condições do método de ensaio definidas de forma a se poder proceder à sua validação.

Tabela 2.11: Linhas de emissão selecionadas para o método analítico

Elemento	Linha de emissão (nm)	Modo	Integração	Linha de padrão interno (nm)	Observações
Al	167,079	Axial	Bilateral	203,079	Linha primária do ME
Al	396,152	Axial	Bilateral	255,237	Linha secundária do ME, usada em amostras com $c(\text{Fe}) \geq 1000 \mu\text{g/L}$
B	249,773	Axial	Unilateral (dir)	255,257	Linha primária do ME
B	249,678	Axial	Unilateral (dir)	255,257	Linha secundária do ME, usada em amostras com $c(\text{Fe}) \geq 1000 \mu\text{g/L}$
Ba	230,424	Axial	Bilateral	201,768	-
Be	313,042	Axial	Bilateral	255,257	-
Ca	315,887	Radial	Bilateral	-	-
Cd	214,438	Axial	Bilateral	201,768	$\text{Ba} \leq 500 \mu\text{g/L}$
Co	228,616	Axial	Bilateral	203,279	-
Cr	267,716	Axial	Bilateral	255,237	-
Cu	324,754	Axial	Bilateral	201,768	-
Fe	238,204	Axial	Bilateral	255,257	-
K	766,491	Radial	Bilateral	-	-
Li	670,784	Axial	Bilateral	335,373	-
Mg	280,270	Radial	Bilateral	-	-
Mn	257,610	Axial	Bilateral	255,257	-
Mo	202,030	Axial	Bilateral	201,768	-
Na	589,592	Radial	Bilateral	-	-
Ni	231,604	Axial	Unilateral (esq)	201,768	-
P	177,495	Axial	Bilateral	-	-
Si	212,412	Axial	Bilateral	201,768	Pode ser lida em modo radial mas aumentaria o tempo de leitura por amostra
Sn	189,989	Axial	Bilateral	201,768	-
Sr	407,771	Axial	Bilateral	255,257	-
V	292,402	Axial	Unilateral (dir)	255,257	-
Zn	213,856	Axial	Bilateral	201,768	Pode ser lida em modo radial mas aumentaria o tempo de leitura por amostra

Tabela 2.12: Gamas de trabalho para cada linha de emissão

Elemento	Linha de emissão (nm)	Gama de trabalho
Al	167,079	20-160 µg/L
Al	396,152	20-120 µg/L
B	249,773	20-160 µg/L
B	249,678	20-160 µg/L
Ba	230,424	5-40 µg/L
Be	313,042	2-16 µg/L
Ca	315,887	5-40 mg/L
Cd	214,438	1,5-9 µg/L
Co	228,616	5-30 µg/L
Cr	267,716	5-40 µg/L
Cu	324,754	20-160 µg/L
Fe	238,204	20-160 µg/L
K	766,491	1-8 mg/L
Li	670,784	2-12 µg/L
Mg	280,270	1-8 mg/L
Mn	257,610	5-40 µg/L
Mo	202,030	10-60 µg/L
Na	589,592	5-40 mg/L
Ni	231,604	10-60 µg/L
P	177,495	25-200 µg/L
Si	212,412	1,5-12 mg/L
Sn	189,989	10-60 µg/L
Sr	407,771	5-40 µg/L
V	292,402	10-60 µg/L
Zn	213,856	20-160 µg/L

Capítulo 3: Validação do método de ensaio

3.1: Introdução

Para um método analítico ser corretamente validado, é necessário avaliar o desempenho do método de forma cientificamente rigorosa, sendo necessário conhecer e provar os limites de detecção e quantificação do método, validar aproximações matemáticas utilizadas no modelo aplicado para obtenção de resultados e estimar a precisão e exatidão do método de ensaio, de forma a calcular a incerteza do método. No âmbito da validação de métodos de ensaio em águas existem várias normas, nas quais se baseou este processo de validação, apresentadas a seguir.

3.1.1: ISO 11352

A norma ISO 11352 incide sobre a estimativa da incerteza baseada em dados de validação e controlo de qualidade. Esta norma prevê procedimentos para o cálculo da precisão e exatidão do método (figura 3.1).^[14]

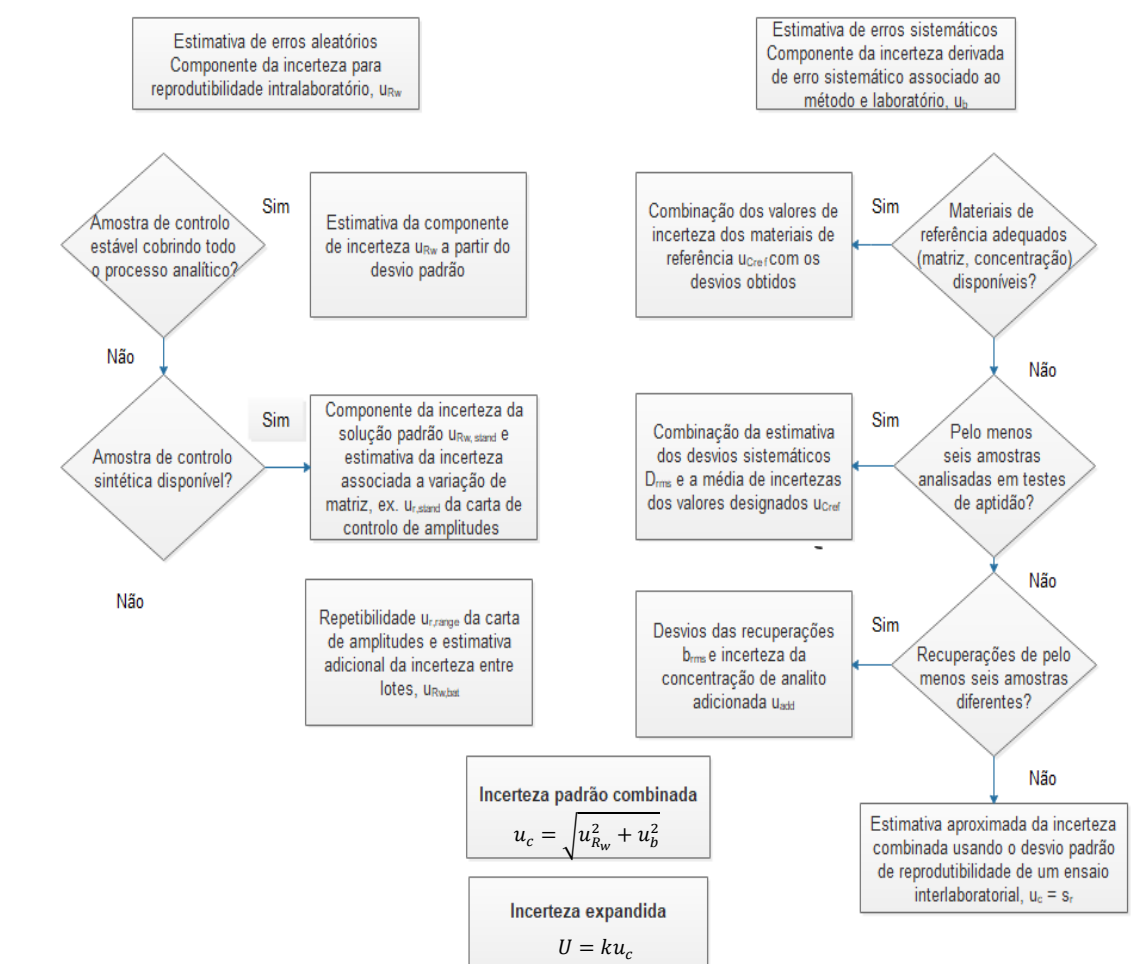


Figura 3.1: Fluxograma com procedimentos para cálculo da incerteza expandida do método de ensaio (adaptado da norma ISO 11352:2012)^[14]

3.1.2: ISO 8466

A norma ISO 8466 apresenta o conjunto de procedimentos para a validação de uma função de calibração linear. Para esse fim, é necessário a seleção de uma gama de trabalho

preliminar, que deve conter, no mínimo, cinco padrões, devendo estes ser lidos dez vezes, de forma a ser testada a homogeneidade de variâncias (a variância não deve variar de acordo com a concentração) comparando a variância no primeiro padrão com a variância no último padrão através de um teste F (equação 3.1) onde PG é o valor de teste a comparar com os valores tabelados para a distribuição F e j representa o padrão de topo da gama de calibração.

$$\text{Equação 3.1: } PG = \frac{s_j^2}{s_1^2} \text{ se } s_j^2 > s_1^2; PG = \frac{s_1^2}{s_j^2} \text{ se } s_1^2 > s_j^2$$

Caso PG seja menor ou igual ao valor tabelado, considera-se que a diferença entre as variâncias não é significativa e consequentemente existe homogeneidade de variâncias. Se for superior, a gama de trabalho deve ser encurtada até se conseguir atingir a homogeneidade de variâncias.

Em seguida, é avaliada a diferença entre uma função de calibração não linear e uma função linear, analisando a diferença (DS^2) entre a variância dos resultados obtidos em relação à função de ajuste linear e a variância dos resultados obtidos com a função de ajuste não linear, de acordo com a equação 3.2, onde s_{y1}^2 é a variância em relação à função de ajuste linear e s_{y2}^2 é a variância em relação à função de ajuste não linear, assumindo o grau de liberdade igual a 1.

$$\text{Equação 3.2: } DS^2 = (N - 2)s_{y1}^2 - (N - 3)s_{y2}^2; PG = \frac{s_1^2}{s_j^2} \text{ se } s_1^2 > s_j^2$$

São então comparadas as variâncias com recurso a um teste F (equação 3.2), onde a estatística de teste PG é dada pela equação 3.3.

$$\text{Equação 3.3: } PG = \frac{DS^2}{s_{y2}^2}$$

Caso PG seja inferior ao valor de F tabelado, considera-se que o ajuste não linear não é significativamente superior ao ajuste linear e consequentemente a função linear representa de forma adequada a variação dos resultados. Se PG for superior ao valor de F, a gama de trabalho pode ser reduzida e reavaliada a sua linearidade ou a calibração ser realizada por uma função não linear.

A calibração linear é efetuada com recurso ao método dos mínimos quadrados, sendo a função matemática linear obtida aquela que apresenta o menor somatório dos quadrados dos desvios dos resultados obtidos em relação aos valores previstos pela função. Esta função é caracterizada pelo declive e pelo ponto de interceção da reta com o eixo das ordenadas (0y) e complementada com a banda de incerteza que estabelece, para um dado intervalo de confiança (habitualmente, 95%), que os resultados obtidos estejam contidos dentro da zona definida pelas duas curvas hiperbólicas (figura 3.2).

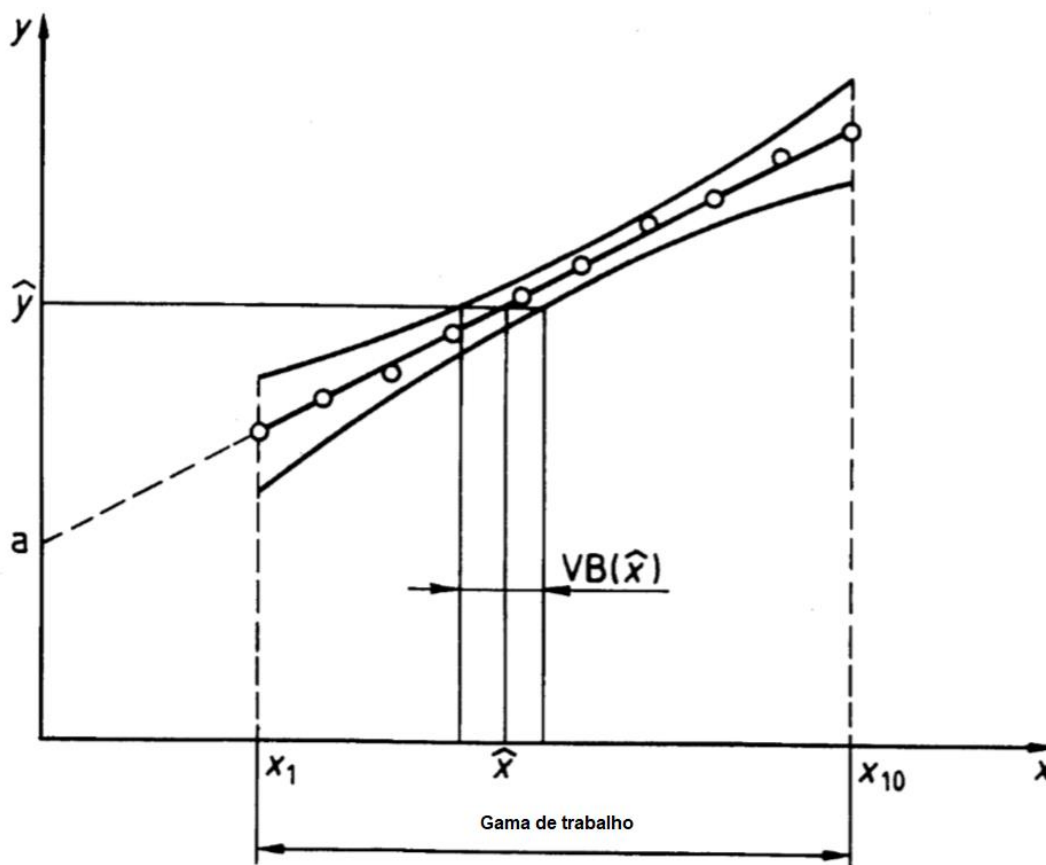


Figura 3.2: Reta de calibração e banda de incerteza associada^[14]

Para traçar as curvas limite da banda de incerteza é preciso conhecer o intervalo de valores possíveis de x (equação 3.4) para um dado valor de y , com a confiança definida para uma distribuição t de Student, designado por $VB(\hat{x})$ (equação 3.5) onde \hat{y} é a média dos valores lidos para uma determinada amostra, \hat{n} é o número de réplicas lidas para cada padrão, N corresponde ao número de padrões lidos, s_y é o desvio padrão residual e b corresponde ao declive da reta calculada pelo método dos mínimos quadrados.^[15]

$$\text{Equação 3.4: } \hat{x}_{1,2} = \frac{(\hat{y}-a)}{b} \pm VB(\hat{x})$$

$$\text{Equação 3.5: } VB(\hat{x}) = \frac{s_y t}{b} * \sqrt{\frac{1}{N} + \frac{1}{\hat{n}} + \frac{(\hat{y}-\bar{y})^2}{b^2 \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}}$$

3.1.3: Limiares analíticos do método de ensaio

Qualquer método analítico apresenta um limite de deteção (LD), designação estabelecida pela IUPAC que se refere ao valor mais baixo de concentração do analito que gera um sinal que pode ser distinguido do sinal gerado por um branco, que para um nível de confiança de 99% ($k=3$)^[12], é definido pela equação 3.6, onde \bar{x}_b é uma média do sinal de (pelo menos) vinte medições de brancos, e s_b representa o desvio padrão dessa série de medições.

$$\text{Equação 3.6: } LD = \bar{x}_b + 3 s_b$$

De forma a ser possível trabalhar em unidades de concentração, pode ser usado o declive da reta de calibração para se obter um limite de deteção em unidades de concentração,

através da equação 3.7, onde b é o declive da reta de calibração (assegurando-se a linearidade da reta de calibração).

$$\text{Equação 3.7: } LD = \frac{(\overline{x_b} + 3s_b)}{b}$$

No entanto, os valores obtidos próximos ou equivalentes ao limite de detecção apresentam uma incerteza, em percentagem, demasiado elevada para serem considerados fidedignos, sendo por isso obrigatória a definição de um segundo limite, o limite de quantificação (LQ). Este limite é o limite inferior a partir do qual a precisão do resultado é considerada aceitável no âmbito do método de ensaio, sendo neste caso o valor mais baixo admissível para o início da gama de trabalho. Este pode ser definido a partir da dispersão dos valores obtidos após análise de uma série de brancos (equação 3.8), devendo a incerteza expandida (U) resultante ser inferior a 20% no LQ, ou, mais corretamente, a partir da dispersão dos resultados da análise de soluções com concentração correspondente ao padrão mais baixo da reta de calibração (equação 3.9). Para assegurar a robustez estatística dos resultados obtidos, as medições para este objetivo devem ser realizadas em condições de precisão intermédia, isto é, com a análise de soluções em condições variadas, seja com diferentes calibrações, preparadas por diferentes operadores, lidas em dias diferentes ou com lotes de reagentes diferentes.

$$\text{Equação 3.8: } LQ = \overline{x_b} + 10 s_b$$

$$\text{Equação 3.9: } LQ = 10 s_b$$

3.2: Determinação de limiares analíticos

Como referido no subcapítulo anterior, para que uma gama de trabalho seja válida no âmbito de um método de ensaio, é necessário garantir que o primeiro padrão, correspondente ao valor mais baixo da gama de trabalho, apresenta concentração igual ou superior ao limite de quantificação. Para a determinação do limite de quantificação foram lidos mais de vinte pares de soluções em branco e de concentração correspondente ao primeiro padrão da gama de trabalho (P1), distribuídos por três ou mais dias diferentes, sendo que num dos três dias as soluções foram preparadas por outro operador, apresentando-se na tabela 3.1 os valores de LQ determinados para cada linha analítica.

Tabela 3.1: Limites de detecção e quantificação para as linhas de emissão do ME

Elem.	Linha de emissão (nm)	LD	LQ (branco)	LQ (P1)	P1
Al	167,079	1,5 µg/L	2,9 µg/L	9,0 µg/L	20 µg/L
Al	396,152	7,1 µg/L	9,2 µg/L	9,4 µg/L	20 µg/L
B	249,773	4,9 µg/L	8,9 µg/L	8,2 µg/L	20 µg/L
B	249,678	2,3 µg/L	8,3 µg/L	10,3 µg/L	20 µg/L
Ba	230,424	0,7 µg/L	1,3 µg/L	1,1 µg/L	5 µg/L
Be	313,042	0,1 µg/L	0,7 µg/L	0,6 µg/L	2 µg/L
Ca	315,887	0,02 mg/L	0,05 mg/L	1,56 mg/L	5 mg/L
Cd	214,438	0,1 µg/L	0,3 µg/L	0,4 µg/L	1,5 µg/L
Co	228,616	0,4 µg/L	0,6 µg/L	2,7 µg/L	5 µg/L
Cr	267,716	1,6 µg/L	3,7 µg/L	2,7 µg/L	5 µg/L
Cu	224,700	2,5 µg/L	4,7 µg/L	6,0 µg/L	20 µg/L
Fe	238,204	0,9 µg/L	1,6 µg/L	4,4 µg/L	20 µg/L
K	766,491	0,04 mg/L	0,26 mg/L	0,43 mg/L	1 mg/L
Li	670,784	0,1 µg/L	0,5 µg/L	0,7 µg/L	2 µg/L
Mg	280,270	0,01 mg/L	0,004 mg/L	0,28 mg/L	1 mg/L
Mn	257,610	0,14 µg/L	0,35 µg/L	1,14 µg/L	5 µg/L
Mo	202,030	0,55 µg/L	1,56 µg/L	4,62 µg/L	10 µg/L
Na	589,592	0,01 mg/L	0,29 mg/L	1,67 mg/L	5 mg/L
Ni	231,604	1,97 µg/L	9,41 µg/L	4,66 µg/L	10 µg/L
P	177,495	14,09 µg/L	37,26 µg/L	13,57 µg/L	25 µg/L
Si	212,412	0,01 mg/L	0,02 mg/L	0,39 mg/L	1,5 mg/L
Sn	189,989	1,41 µg/L	3,02 µg/L	6,97 µg/L	10 µg/L
Sr	407,771	0,17 µg/L	0,59 µg/L	2,21 µg/L	5 µg/L
V	292,402	1,13 µg/L	3,90 µg/L	3,21 µg/L	10 µg/L
Zn	213,856	1,02 µg/L	2,64 µg/L	7,46 µg/L	20 µg/L

Verificou-se que todos os valores definidos para P1 estão acima do LQ definido pelo desvio padrão de soluções de branco (com exceção do fósforo, que após posteriores leituras de brancos chegou-se à conclusão que se trata de um problema de contaminação nos brancos lidos) e soluções de P1. Seria possível obter gamas de trabalho com concentrações inferiores às selecionadas para alguns elementos; no entanto, deve existir uma margem de segurança que permita lidar com fenômenos de degradação do sinal analítico sem pôr em causa o método de ensaio e garantir que nenhum valor determinado pelo laboratório possa apresentar erros que comprometam o cumprimento dos limites legalmente definidos. Por outro lado, a gama de trabalho, de forma a garantir linearidade e incerteza combinada abaixo de 20% nos dois extremos da gama, não deve ser demasiado extensa, pelo que valores de P1 demasiado pequenos limitam a extensão da gama de aplicação, exigindo maior número de diluições das soluções que apresentarem parâmetros acima da gama de trabalho. Esta é então selecionada, não nos valores mais baixos possíveis, mas numa gama de trabalho que cumpra a legislação e que seja adequada para a maioria das amostras analisadas em laboratório.

3.3: Linearidade

A determinação da linearidade da variação de sinal com a concentração nas gamas de trabalho foi feita seguindo os princípios definidos na norma ISO 8466 (ver subcapítulo 3.1.2). Para assegurar esta linearidade, é importante que os padrões sejam em número suficiente e distribuídos ao longo da reta, preferencialmente distribuídos de forma homogênea. Apresentam-se na tabela 3.2 os padrões definidos para cada gama de trabalho, sendo que no caso do alumínio, de forma a manter a linearidade a reta de calibração é estimada a partir de apenas 5 padrões (de outro modo teria que ser lido um padrão adicional entre 80 e 120 µg/L apenas para uso na linha secundária de alumínio).

Tabela 3.2: Gama de trabalho por linha de emissão do ME

Elem.	Linha de emissão (nm)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	Unid.
Al	167,079	20	40	60	80	120	160	µg/L
Al	396,152	20	40	60	80	120	-	µg/L
B	249,773	20	40	60	80	120	160	µg/L
B	249,678	20	40	60	80	120	160	µg/L
Ba	230,424	5	10	15	20	30	40	µg/L
Be	313,042	2	4	6	8	12	16	µg/L
Ca	315,887	5	10	15	20	30	40	mg/L
Cd	214,438	1,5	3	4,5	6	7,5	9	µg/L
Co	228,616	10	20	30	40	50	60	µg/L
Cr	267,716	5	10	15	20	30	40	µg/L
Cu	224,700	20	40	60	80	120	160	µg/L
Fe	238,204	20	40	60	80	120	160	µg/L
K	766,491	1	2	3	4	6	8	mg/L
Li	670,784	2	4	6	8	10	12	µg/L
Mg	280,270	2	4	6	8	12	16	mg/L
Mn	257,610	5	10	15	20	30	40	µg/L
Mo	202,030	10	20	30	40	50	60	µg/L
Na	589,592	5	10	15	20	30	40	mg/L
Ni	231,604	10	20	30	40	50	60	µg/L
P	177,495	25	50	75	100	150	200	µg/L
Si	212,412	1,5	3	4,5	6	9	12	mg/L
Sn	189,989	10	20	30	40	50	60	µg/L
Sr	407,771	5	10	15	20	30	40	µg/L
V	292,402	10	20	30	40	50	60	µg/L
Zn	213,856	20	40	60	80	120	160	µg/L

Para validação da linearidade nas gamas de trabalho selecionadas foram lidas três retas de calibração por dia em três dias distintos, aplicando o método dos mínimos quadrados ordinários aos sinais obtidos para cada um dos padrões da reta. Este método permite calcular uma função matemática do tipo $y=mx+b$ que minimize a soma dos quadrados dos resíduos (diferença entre o valor observado e o valor da função gerada pelo método) e um coeficiente de correlação de Pearson R (habitualmente expresso como R^2), variante entre 0 e 1, que define o

grau de afastamento médio dos resultados em relação à função calculada (sendo a função apresentada aquela que apresentar um R maior).

Determinou-se então que, para obter uma incerteza inferior a 20% com intervalo de confiança de 95% nos extremos da reta, o valor mínimo de R^2 admissível para uma reta de calibração é 0,99925. No decorrer do estudo, surgiram algumas dificuldades no cumprimento deste critério para elementos com sinais menos intensos ou com menor estabilidade de sinal, exigindo rigor e perícia na preparação dos padrões e a sua frequente substituição, nomeadamente no caso do estanho (que é instável na matriz dos padrões lidos), bem como a importância de estabelecer um período de estabilização do plasma antes de começar a sequência de análise. Relativo a este último ponto, definiu-se um período mínimo de estabilização de 15 minutos seguido de um teste de estabilidade que consiste na leitura de uma solução branco a 10% HNO_3 (garantindo simultaneamente que o equipamento se encontra limpo) e análise de RSD dos sinais do padrão interno (S_c) antes de se iniciar a calibração, devendo estes ser inferiores a 3% quer na zona UV quer na zona visível do espectro.

Considerou-se ainda que podem ser desprezados, no máximo, dois dos padrões (excetuando os padrões inferior e superior da gama), caso o seu valor em contagens seja um *outlier* em relação aos restantes, de forma a obter um valor mais elevado para o coeficiente R^2 . Nas figuras 3.3 e 3.4 apresentam-se exemplos das retas obtidas pela média de três calibrações para o caso do cádmio e do fósforo, com as bandas de incerteza superior e inferior correspondentes a um intervalo de confiança de 95%. Este procedimento foi realizado para cada linha de emissão e os resultados foram comparados com a reta de calibração gerada pelo software analítico (Qtegra™), verificando-se que são idênticos, assegurando deste modo a validação do algoritmo de cálculo das retas presente no software usado.

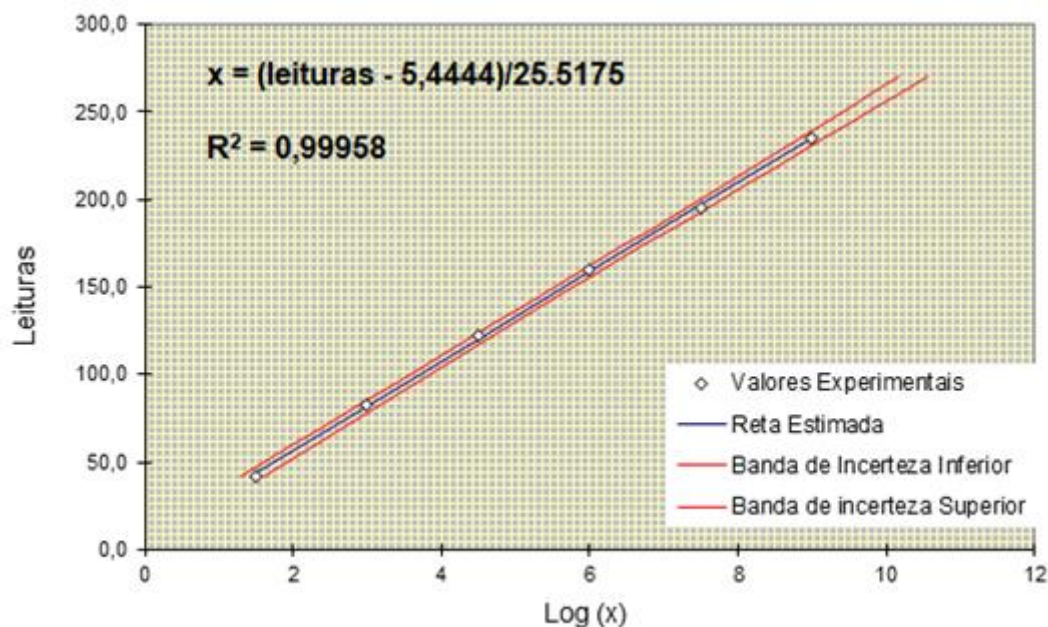


Figura 3.3: Reta de calibração para a linha de emissão de cádmio (214,438 nm), estimada aplicando o método dos mínimos quadrados a uma média de três leituras de cada padrão

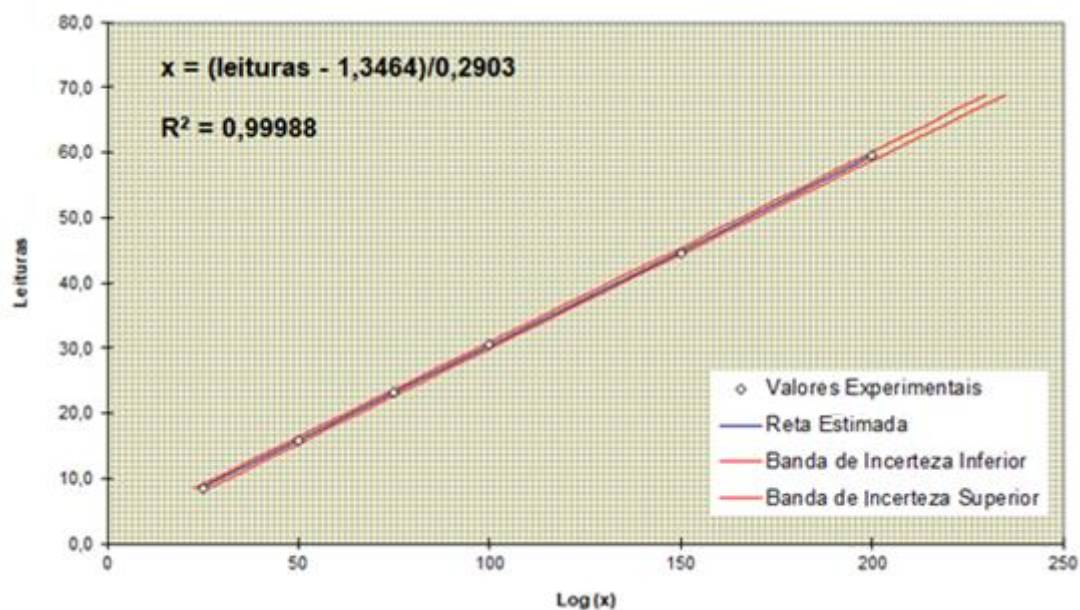


Figura 3.4: Reta de calibração para a linha de emissão de fósforo (177,495 nm), estimada aplicando o método dos mínimos quadrados a uma média de três leituras de cada padrão

3.4: Estudo da incerteza do método

Um método de ensaio deve idealmente poder ser estudado em condições de reprodutibilidade. O fenómeno de emissão espectral é altamente reprodutível, sendo prova disso a existência de bibliotecas espectrais com as linhas de emissão mais comuns. No entanto, na maior parte dos casos não é possível aplicar o mesmo método em vários laboratórios diferentes, de forma a obter informação sobre a reprodutibilidade global do método, pelo que normalmente esta é estudada em condições de precisão intermédia, onde o método é estudado com o mesmo sistema e procedimento analítico, mas com a introdução de condições variáveis (diferentes operadores, lotes de reagentes, medições espaçadas num largo intervalo de tempo).

Para conhecer a incerteza é obrigatório conhecer a exatidão e a precisão do método. Para este fim, foram analisados MRC (tabela 3.3) e amostras reais fortificadas em laboratório (tabela 3.4). Estes foram lidos em condições de precisão intermédia, com dias e operadores diferentes e os resultados obtidos foram usados para estimar a incerteza global do método.

Os MRC utilizados são amostras de águas obtidas em lagos, rios e aquíferos subterrâneos, contendo matrizes multielementares de metais dissolvidos (com adição de 2 a 10% de HNO_3) abrangendo todos os elementos presentes no método, em diferentes matrizes (cópias dos certificados no Anexo IX).

Tabela 3.3: MRC estudados para avaliação da exatidão

Designação	Matriz	Elementos certificados e quantificáveis
TM 15-3	Água fortificada	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Sn, Sr, V, Zn
1640a	Águas subterrâneas	Al, B, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Si, Sr, V, Zn
1643f	Águas de consumo	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Sr, V, Zn
SPS-SW2	Águas superficiais	Al, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Mo, Ni, P, Si, Sr, V, Zn
CA011C	Águas de consumo	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Sr, V, Zn

Para o estudo da exatidão foram avaliados os desvios dos valores lidos para cada MRC em relação aos valores certificados, determinando-se a componente de erro sistemático de acordo com a equação 3.10, onde b_{rms} é a raiz média quadrada dos resultados obtidos para todos os MRC relevantes, e $\bar{u}_{C(pad)}^2$ é a média das incertezas certificadas para cada MRC. A dispersão dos resultados foi também avaliada através do teste t de Student com hipótese $\mu_0 = 0$ (a variável obedece a uma distribuição t de Student), obtendo um valor t_{exp} (equação 3.11) que deve ser inferior ao valor tabelado correspondente a uma distribuição com n graus de liberdade (onde n é o número de leituras independentes) para um intervalo de confiança de 99%.

$$\text{Equação 3.10: } u_b = \sqrt{\bar{u}_{C(pad)}^2 + b_{rms}^2}$$

$$\text{Equação 3.11: } t_{exp} = \left| \frac{(\bar{X} - \mu_0)}{s/\sqrt{n}} \right|$$

Tabela 3.4: Incertezas determinadas com recurso a MRC e teste t de Student

Elem.	Linha de emissão (nm)	nº MRC	\bar{u}_C^2 (standard)	b_{rms} (%)	u_b (%)	t_{exp} ($t_{(0,99)}$)
Al	167,079	4	1,80	3,19	3,66	1,4 (3,05)
Al	396,152	4	1,80	4,80	5,13	1,1 (3,05)
B	249,773	4	3,05	2,62	4,02	0,3 (3,05)
B	249,678	4	3,05	2,48	3,93	0,04 (3,05)
Ba	230,424	4	1,53	1,97	2,50	0,5 (3,05)
Be	313,042	4	1,53	2,56	2,99	0,1 (3,05)
Ca	315,887	4	0,44	1,67	1,73	0,2 (3,11)
Cd	214,438	4	1,65	2,76	3,21	0,5 (3,05)
Co	228,616	4	1,06	2,42	2,64	0,7 (3,05)
Cr	267,716	4	1,36	3,09	3,37	1,2 (3,05)
Cu	224,700	4	1,91	2,45	3,11	0,2 (3,05)
Fe	238,204	4	2,15	3,83	4,39	1,6 (3,05)
K	766,491	3	0,54	0,80	0,96	0,1 (3,50)
Li	670,784	2	3,26	3,32	4,65	0,2 (4,03)
Mg	280,270	4	0,39	2,73	2,76	0,4 (3,11)
Mn	257,610	5	1,26	4,03	4,22	1,4 (3,05)
Mo	202,030	4	1,52	1,92	2,45	0,1 (3,05)
Na	589,592	3	0,64	1,31	1,46	0,1 (3,36)
Ni	231,604	5	1,61	2,45	2,93	0,2 (3,11)
P	177,495	1	0,30	0,99*	0,76	—*
Si	212,412	2	0,25	1,81	1,83	0,1 (3,71)
Sn	189,989	1	4,64	1,36	4,68	0,1 (4,71)
Sr	407,771	4	2,11	2,41	3,21	0,6 (3,05)
V	292,402	3	1,42	2,20	2,62	0,6 (3,05)
Zn	213,856	4	2,01	2,61	3,29	0,1 (3,05)

*leituras insuficientes para análise via distribuição t de Student

Este procedimento pode também ser realizado com recurso a recuperações, isto é, a leituras de amostras seguidas de leitura das mesmas amostras com adição de uma quantidade conhecida de analito (*spike*) e subsequente avaliação da diferença entre o valor esperado e o valor lido, de acordo com a equação 3.12, onde $u_{analito}$ representa a incerteza da concentração de analito adicionada.

$$\text{Equação 3.12: } u_b = \sqrt{b_{rms}^2 + u_{analito}^2}$$

Para o estudo da precisão, foram analisados dados de leituras de MRC, dos padrões lidos e da leitura de amostras reais fortificadas (ver tabela 3.5) de forma a ter concentrações distribuídas ao longo das gamas de trabalho, estimando u_b a partir dos dados de MRC lidos e u_{RW} (componente de incerteza associada ao erro aleatório) a partir do desvio padrão dos padrões e amostras analisados, considerando--se o valor máximo de desvio padrão (gráficos no anexo VII) para cada linha para efeito de cálculo da incerteza.

Tabela 3.5: Amostras analisadas para estudo da incerteza

Designação	Elementos quantificáveis
Torneira	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, V, Zn
OTA	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sn, Sr, V, Zn
TRA-L	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, Zn
TRA2-L	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, V
LEZ II P7	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, V, Zn
LEZ II P8	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, V, Zn
LEZ II P9	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, V, Zn
LEZ II P10	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, V, Zn
LEZ III P15	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, V, Zn
LEZ III P16	Al, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Si, Sr, V, Zn

Para o cálculo da incerteza, são usados os resultados das componentes de exatidão e precisão de acordo com a equação 3.13, considerando-se um fator $k=2$ (representando um intervalo de confiança de 95%) para determinação da incerteza global (2U). Os resultados são apresentados na tabela 3.6.

$$\text{Equação 3.13: } u_c = \sqrt{u_{Rw}^2 + u_b^2}$$

Tabela 3.6: Incerteza do método de ensaio por linha de emissão

Elem.	Linha de emissão (nm)	u_b (%)	u_{Rw} (%)	2U (%)	Elem.	Linha de emissão (nm)	u_b (%)	u_{Rw} (%)	2U (%)
Al	167,079	3,66	5,0	12,4	Li	670,784	4,65	4,0	14,0
Al	396,152	6,18	5,0	15,9	Mg	280,270	2,76	3,0	8,2
B	249,773	4,02	4,0	11,03	Mn	257,610	4,22	4,0	11,6
B	249,678	3,93	5,5	13,5	Mo	202,030	2,45	4,5	10,2
Ba	230,424	2,50	4,0	9,4	Na	589,592	1,46	4	8,5
Be	313,042	2,99	3,0	8,5	Ni	231,604	2,93	5	11,6
Ca	315,887	1,73	3,0	6,9	P	177,495	0,76	5,5	11,1
Cd	214,438	3,21	7,1	15,6	Si	212,412	1,83	3	7,0
Co	228,616	2,64	5,5	12,2	Sn	189,989	4,68	6,2	15,5
Cr	267,716	3,37	5,5	12,9	Sr	407,771	3,21	5,0	11,9
Cu	224,700	3,11	6,0	13,5	V	292,402	2,62	4,0	9,6
Fe	238,204	4,39	4,5	12,6	Zn	213,856	3,29	3,5	9,6
K	766,491	0,96	4,0	8,2					

3.5: Validação via ensaio interlaboratorial

Para além do estudo via MRC o método foi também validado com recurso a ensaios interlaboratoriais (AGLAE 18M3B.1, LGC Aquacheck 4081 n° 544 e Aquacheck 4081 n° 545) obtendo-se os resultados descritos na tabela 3.7. Excetuando o caso do magnésio, todos os elementos foram avaliados por ensaio interlaboratorial e todos cumprem o critério $|z| \leq 2$.

Tabela 3.7: Resultados (z-score) dos ensaios interlaboratoriais realizados

Elem.	Unidades	AGLAE 18M3B.1		LGC AQ 4081 (544)		LGC AQ 4081 (545)	
		Valor lab.	z-score	Valor lab.	z-score	Valor lab.	z-score
Al	µg/L	130,60	0,08	44,6	0,58	138,0	0,95
B	µg/L	376,80	0,11	-	-	679	0,47
Ba	µg/L	123,65	0,02	256	-0,21	172,0	0,00
Be	µg/L	-	-	3,79	0,00	< 2,00	-
Ca	mg/L	-	-	-	-	91,00	0,30
Cd	µg/L	12,15	1,04	-	-	5,79	0,75
Co	µg/L	36,04	0,81	9,02	0,88	16,5	0,95
Cr	µg/L	54,67	0,01	9,62	0,15	17,4	0,00
Cu	µg/L	-	-	52,2	0,84	366	0,07
Fe	µg/L	78,93	0,52	362	0,58	146,0	0,67
K	mg/L	-	-	-	-	2,59	-1,00
Li	µg/L	312,53	0,63	24,0	0,25	32,3	-0,28
Mg	mg/L	-	-	-	-	-	-
Mn	µg/L	28,59	0,02	44,9	0,27	42,3	0,52
Mo	µg/L	-	-	< 10,0	-	17,1	0,83
Na	mg/L	-	-	-	-	39,20	-0,18
Ni	µg/L	32,64	0,56	11,4	0,46	12,0	1,20
P	mg/L	-	-	-	-	1,94	-0,30
Si	mg/L	-	-	-	-	5,57	-0,51
Sn	µg/L	42,91	0,05	-	-	51,5	0,24
Sr	µg/L	-	-	244	0,05	407	0,17
V	µg/L	274,95	0,50	-	-	15,5	0,44
Zn	µg/L	-	-	-	-	148	0,47

Conclui-se que, embora algumas incertezas calculadas sejam elevadas (salientando-se os casos do cádmio, cobre, estanho e as linhas alternativas de alumínio e boro), os resultados obtidos cumprem o objetivo inicial, garantido incertezas inferiores a 20% em toda a gama de trabalho, e a sua solidez foi demonstrada nos testes interlaboratoriais. Poderiam ainda ter sido calculadas incertezas em sub-gamas da gama de trabalho, de forma a ter em conta a variação de incerteza ao longo da gama de trabalho.

Capítulo 4: Implementação do método em rotina

4.1: Preparação de padrões

Os padrões são preparados com recurso a soluções padrão monoelementares diluídas e combinadas em seis padrões monoelementares de concentração crescente, de acordo com as tabelas 4.1 e 4.2. Todas as soluções intermédias e padrões são preparados em balões volumétricos de PP ou PVA previamente descontaminados, com recurso a micropipetas, assegurando-se a sua homogeneização a cada passo do processo. Todas as soluções intermédias e padrões são preparados em solução de água desionizada com 0,5% HNO₃ (v/v), com exceção da primeira intermédia de Sn, preparada em solução aquosa com 5% HCl. Os padrões de controlo são preparados com o mesmo procedimento, com a concentração correspondente a P3, mas são utilizadas soluções padrão diferentes, permitindo o despiste de contaminações ou degradação dos padrões. As soluções padrão são substituídas a cada seis meses.

Os padrões de calibração e de controlo são então colocados no amostrador automático em tubos de PP descartáveis para leitura. O amostrador é dotado de capacidade para 240 tubos para amostras, o que corresponde a mais de 24 horas de leituras ininterruptas sem necessidade de recarregamento do equipamento.

Tabela 4.1: Preparação de soluções intermédias (cada cor simboliza solução intermédia independente)

Elem.	Conc. sol. padrão (mg/L)	Vol. sol. padrão para 100 mL (mL)	Conc. 1ª sol. Intermédia (µg/L)	Vol. 1º sol. intermédia para 100 mL (mL)	Conc. 2ª sol. Intermédia (µg/L)
Al	1000	2,500	50000	8,0	4000
B	1000	2,500	50000	8,0	4000
Ba	1000	0,625	12500	8,0	1000
Be	1000	0,250	5000	8,0	400
Ca	10000	2,500	500000		-
Cd	1000	0,375	7500	4,0	300
Co	1000	1,250	25000	4,0	1000
Cr	1000	0,625	12500	8,0	1000
Cu	1000	1,250	25000	8,0	2000
Fe	1000	2,500	50000	8,0	4000
K	10000	0,500	100000		-
Li	1000	0,500	10000	4,0	400
Mg	10000	0,500	100000		-
Mn	1000	0,625	12500	8,0	1000
Mo	1000	2,500	50000	4,0	2000
Na	10000	2,500	500000		-
Ni	1000	2,500	50000	4,0	2000
P	1000	3,125	62500	8,0	5000
Si	10000	0,750	150000		-
Sn	1000	1,000	20000	5,0	1000
Sr	1000	0,625	12500	8,0	1000
V	1000	2,500	50000	4,0	2000
Zn	1000	2,500	50000	8,0	4000

Tabela 4.2: Preparação de padrões a partir de soluções intermédias (valores por 100 mL de padrão)

Elem.	Conc. sol. int. ($\mu\text{g/L}$)	Vol. int. P1	Vol. int. P2	Vol. int. P3	Vol. int. P4	Vol. int. P5	Vol. int. P6
Al	4000	0,5	1	1,5	2	3	4
B	4000	0,5	1	1,5	2	3	4
Ba	1000	0,5	1	1,5	2	3	4
Be	400	0,5	1	1,5	2	3	4
Ca	500000	1	2	3	4	6	8
Cd	300	0,5	1	1,5	2	2,5	3
Co	1000	0,5	1	1,5	2	2,5	3
Cr	1000	0,5	1	1,5	2	3	4
Cu	2000	0,5	1	1,5	2	3	4
Fe	4000	0,5	1	1,5	2	3	4
K	100000	1	2	3	4	6	8
Li	400	0,5	1	1,5	2	2,5	3
Mg	100000	1	2	3	4	6	8
Mn	1000	0,5	1	1,5	2	3	4
Mo	2000	0,5	1	1,5	2	2,5	3
Na	500000	1	2	3	4	6	8
Ni	2000	0,5	1	1,5	2	2,5	3
P	5000	0,5	1	1,5	2	3	4
Si	150000	1	2	3	4	6	8
Sn	1000	1	2	3	4	6	8
Sr	1000	0,5	1	1,5	2	3	4
V	2000	0,5	1	1,5	2	2,5	3
Zn	4000	0,5	1	1,5	2	3	4

A solução de padrão interno é preparada de forma direta, tendo em conta o fator de diluição derivado do sistema de mistura em T onde o fluxo de padrão interno é menor que o da amostra, medindo-se 3,805 mL de solução padrão de escândio ($c = 10000 \mu\text{g/L}$) para um volume de padrão interno de 500 mL.

4.2: Estabilidade

Para determinação do intervalo máximo entre calibrações, realizou-se uma calibração, após a qual foram lidas soluções de um padrão P3, intervaladas entre duas soluções branco, ao longo de um intervalo de 710 minutos (cerca de 11 horas e 30 minutos) e traçados os gráficos correspondentes à variação das leituras (estabilidade) nesse espaço de tempo. Abaixo ilustra-se o procedimento nas figura 4.1 e 4.2.

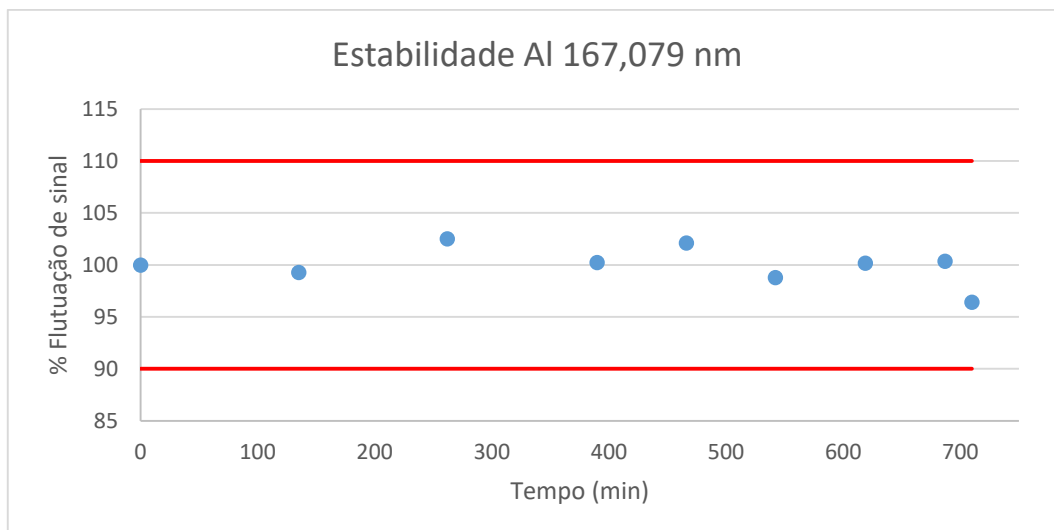


Figura 4.1: Gráfico da variação da concentração lida com o tempo para a linha de emissão de alumínio a 167,079 nm

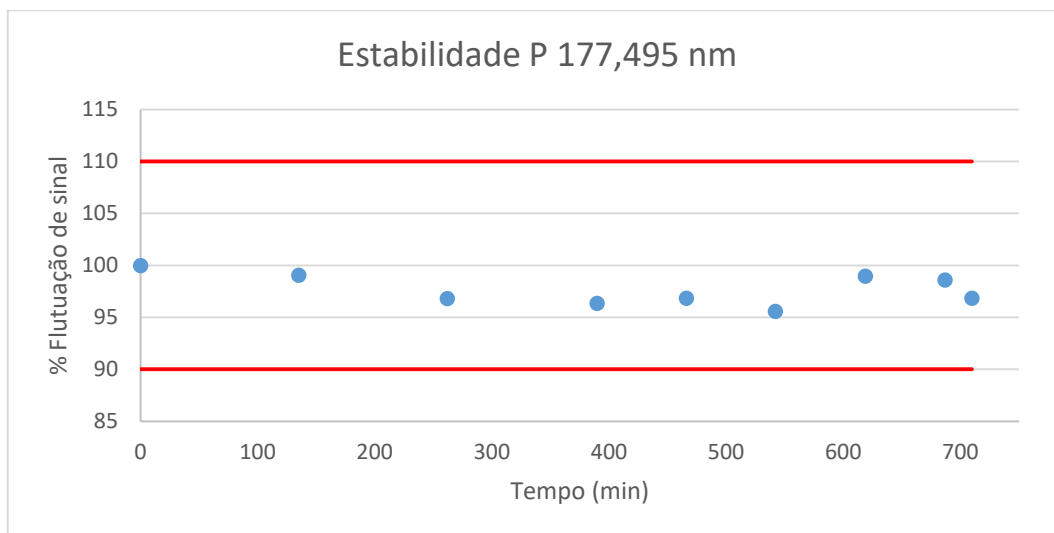


Figura 4.2: Gráfico da variação da concentração lida com o tempo para a linha de emissão de fósforo a 177,495 nm

Conclui-se que o equipamento apresenta variação inferior a 5% de sinal para todas as linhas de emissão, estabelecendo-se que um ciclo de calibração deve ter uma duração máxima de 11 horas e 30 minutos em regime de rotina.

Outro fator relevante é a estabilidade dos padrões preparados. Por falta de tempo, não foi possível conduzir um estudo detalhado da estabilidade das soluções intermédias e dos padrões preparados. No entanto, observou-se que o estanho é instável em solução aquosa com 0,5% de ácido nítrico, optando-se por preparar soluções intermédias separadas para o estanho, com a primeira intermédia em solução de 5% de HCl, de forma a evitar a substituição frequente da primeira intermédia sem alteração visível da matriz final dos padrões de calibração.

4.3: Controlo de qualidade

Estabeleceram-se os seguintes procedimentos de controlo dos resultados obtidos:

- Análise visual do nebulizado na câmara de nebulização (fluxo deve ser regular e nebulizado fino)
- RSD inferior a 3% para as linhas de emissão do padrão interno (Sc)

- RSD de cada leitura inferior a 5%
- Coeficiente de regressão linear de Pearson (R^2) igual ou superior a 0,99925 para todas as linhas de emissão. Podem ser desprezados um máximo de dois padrões (*outliers* em relação aos restantes padrões) da reta de calibração desde que não se trate do primeiro e do último padrão da gama de calibração
- Verificação das zonas de integração de sinal no processo de calibração (exemplos no Anexo VIII)
- Sinal P1 deve ser três vezes superior ao sinal de uma solução branco
- Variação do valor de PC ao longo do ensaio deve ser inferior a 5%.
- Leitura de MRC após cada reta de calibração (e antes da leitura de amostras) e no final de cada sequência de leituras com a mesma calibração
- Leitura de duplicados aleatoriamente designados a cada dez amostras

Os resultados obtidos para brancos e P1 (LQ), PC, duplicados e MRC são controlados continuamente através de cartas de controlo (exemplos nas figuras 4.3 a 4.7), podendo estas ser cartas de controlo de valores individuais ou de amplitudes móveis, com linha central (LC) limites superiores e inferiores de aviso (LSA e LIA, a amarelo) e crítico (LSC e LIC, a vermelho). Dado que estas não foram ainda completamente preenchidas, quaisquer conclusões correriam o risco de serem precipitadas, mas os dados obtidos indicam que a performance do método será, em princípio, adequada aos fins do método de ensaio.

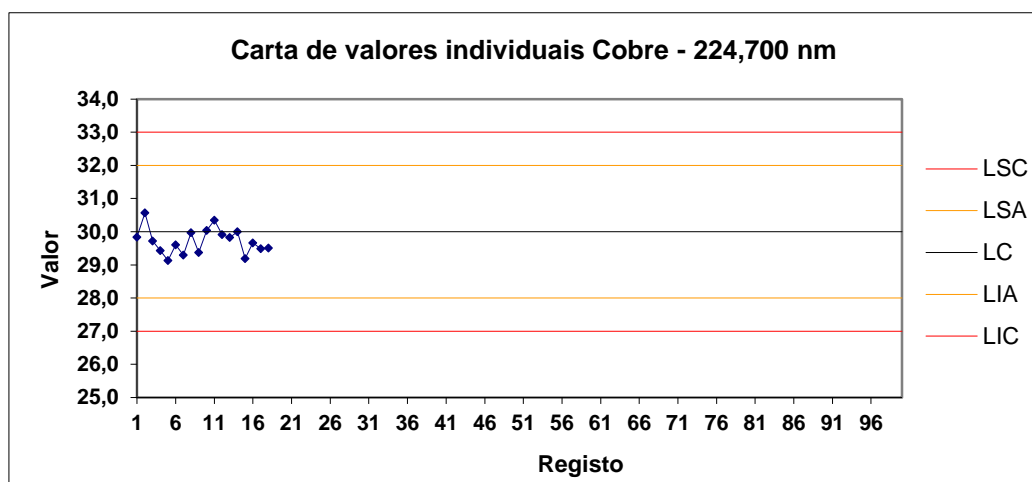


Figura 4.3: Carta de controlo de PC (valores individuais) da linha de emissão de cobre a 224,700 nm

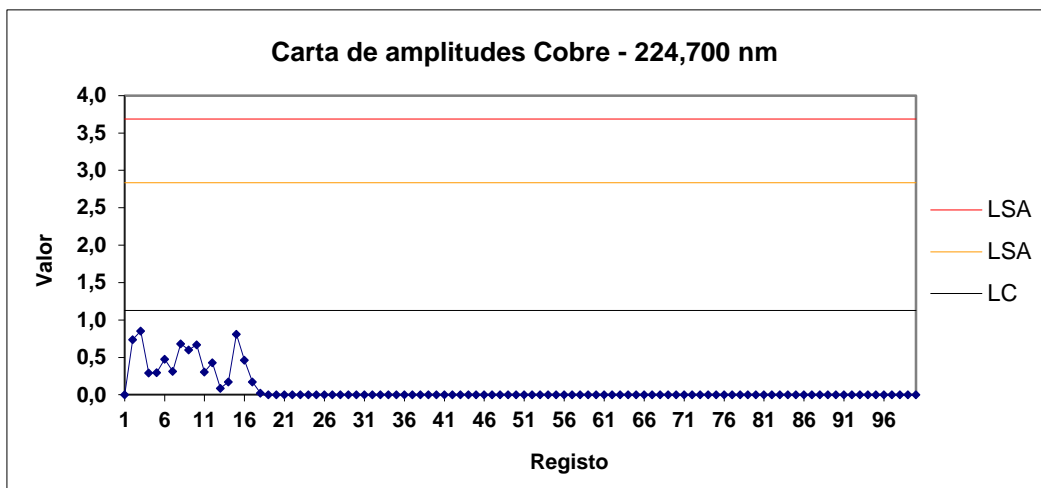


Figura 4.4: Carta de controle de PC (amplitudes móveis) da linha de emissão de cobre a 224,700 nm

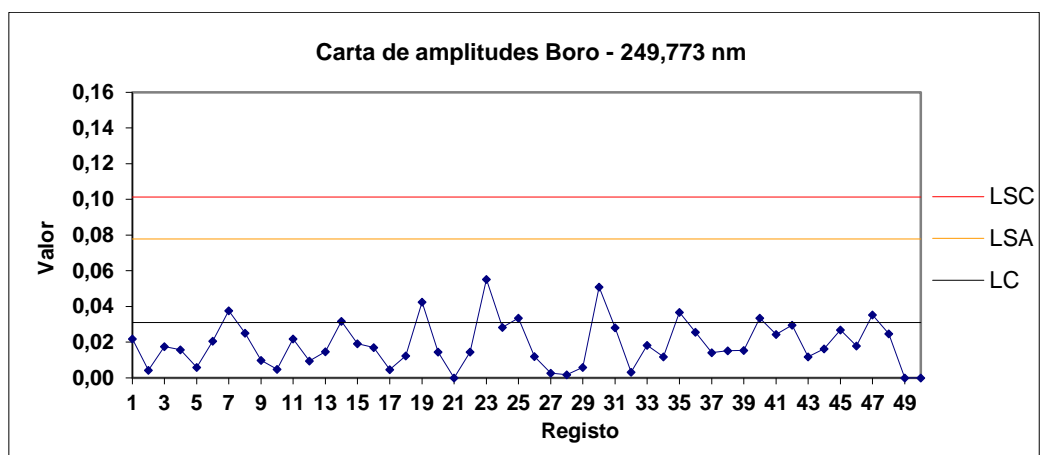


Figura 4.5: Carta de controle de duplicados (amplitudes móveis) da linha primária de emissão de boro a 249,773 nm

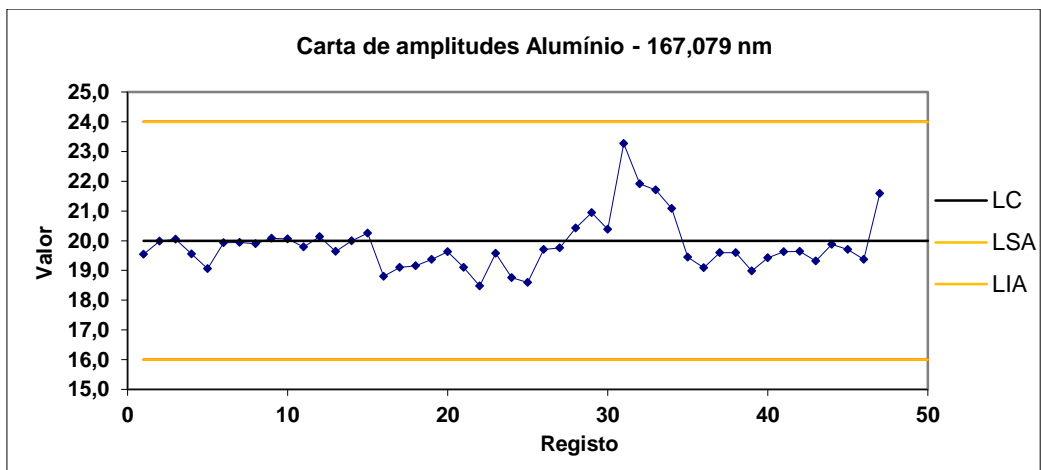


Figura 4.6: Carta de controle do LQ (amplitudes móveis) para a linha de emissão de alumínio a 167,079 nm

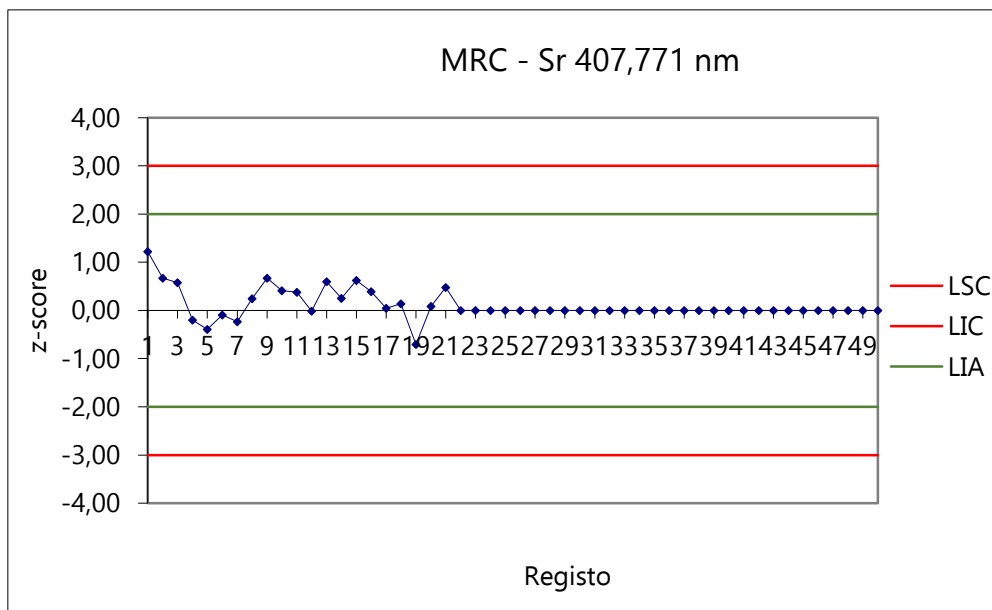


Figura 4.7. Carta de controle de MRC (valores individuais) da linha de emissão de estrôncio a 407,771 nm

4.4 Sequência analítica

1. Ligar o sistema de arrefecimento do detetor do espectrómetro
2. Arranque do espectrómetro (após verificação de níveis de árgon, solução de lavagem, branco e padrão interno, assim como o estado dos tubos de introdução e escoamento de amostra).
3. Após período de estabilização do plasma (mínimo 15 minutos) efetuar a otimização de sinal (linha de carbono).
4. Leitura, com dez réplicas, de uma solução 10% HNO_3 para avaliação da limpeza e estabilidade do equipamento.
5. Leitura de uma solução multielementar para acerto de linhas (ativando a opção de leitura de *full frames* (representação gráfica da superfície do detetor) em modo *Intelliframe* (controle de tempo de exposição realizado pelo software), e verificação das zonas de integração (exemplos nas figuras 4.8, 4.9 e 4.10)
6. Leitura do 3^a padrão da gama de calibração (P3), para verificação de sensibilidade e RSD.
7. Leitura de uma sequência iniciada por branco e seguida dos padrões de calibração em ordem de concentração ascendente (P1 a P6) para traçado da reta de calibração e subsequente controlo (ver subcapítulo 4.4).
8. Leitura de uma sequência de Branco, PC e MRC para avaliação da exatidão.
9. Início da sequência analítica, com inserção de um duplicado e uma leitura de PC a cada dez amostras. Deve ainda ser lida uma recuperação por dia.
10. Análise dos resultados obtidos para avaliação da necessidade de diluições de amostra ou repetição de leituras.
11. Validação dos resultados e consequente inserção em cartas de controlo e LIMS.

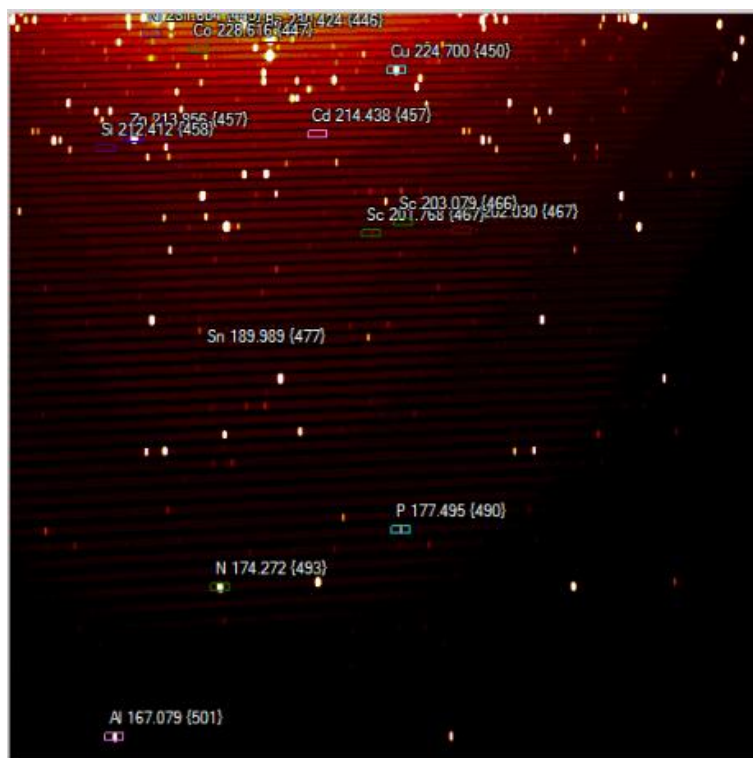


Figura 4.8. *Full frame* da zona ultravioleta do detetor, em modo axial

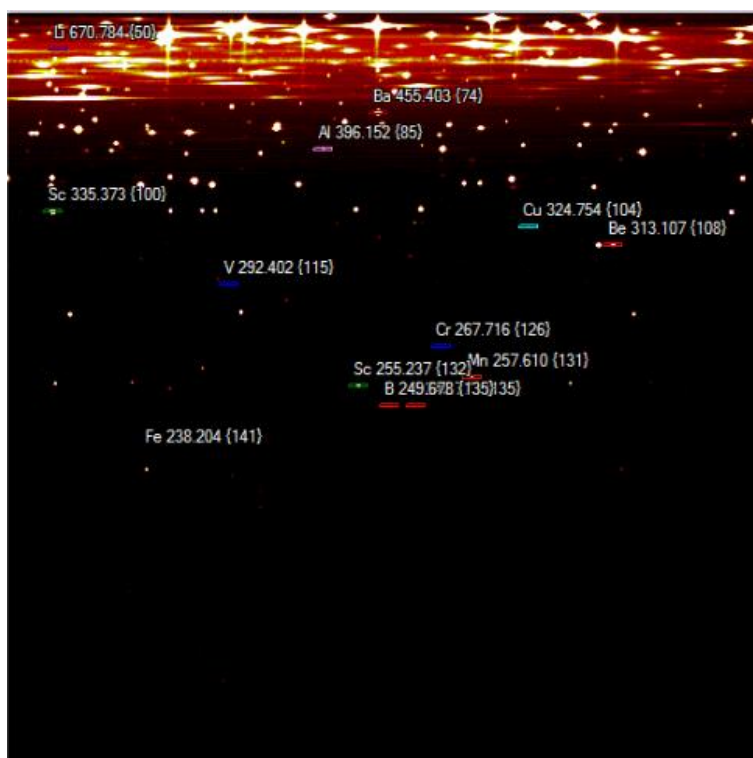


Figura 4.9. *Full frame* da zona visível do detetor, em modo axial

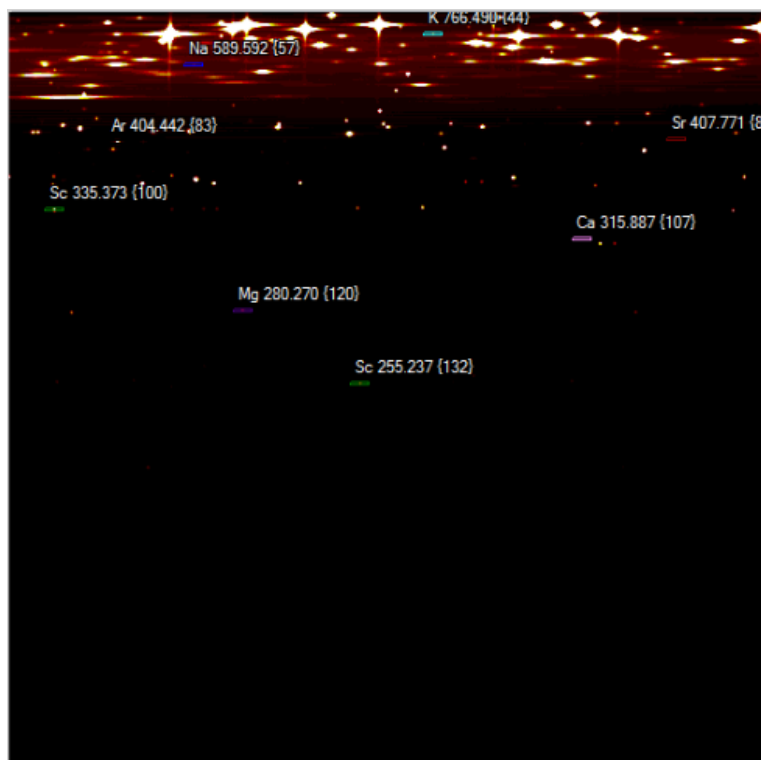


Figura 4.10. *Full frame* da zona visível do detetor, em modo radial

4.5: Manutenção do equipamento em rotina

Alguns dos componentes do equipamento exigem cuidados de manutenção de forma a preservar a qualidade do sinal analítico.

Os tubos de introdução de amostra e padrão interno e o tubo de escoamento devem ser substituídos frequentemente, dado sofrerem desgaste contínuo devido à ação da bomba peristáltica. Estes tubos vêm com dois segmentos, devendo ser utilizado um segmento novo em cada ciclo prolongado de leituras (> 4 horas dos tubos em tensão) e devem ser substituídos sempre que apresentem sinais visíveis de degradação.

A tocha é também um dos componentes do equipamento normalmente associada a uma degradação da qualidade das leituras, devido à acumulação de resíduos na sua superfície. Esta pode ser submetida a um processo de lavagem com solução detergente (p. ex. Extran) e uma solução de 10% HNO₃, podendo ser usada uma tocha suplente de forma a evitar a paragem do equipamento. Outras partes do equipamento por onde passa a amostra, como o jet, o nebulizador e a câmara de nebulização podem também ser lavadas do mesmo modo, caso se verifique uma degradação da qualidade do nebulizado ou do sinal obtido (nomeadamente a nível de RSD). Quando se efetuar a mudança de tocha, o equipamento deve ser recalibrado com recurso a uma solução de 2% de Zn para alinhamento da tocha. Este conjunto de procedimentos deve ser efetuado com uma periodicidade mínima de dois meses.

Após leitura de amostras com concentrações elevadas de elementos de difícil remoção (ver Cap. 2), pode ser necessário um ciclo adicional de limpeza para evitar comprometimento de resultados futuros. Em caso de entupimento da sonda do autosampler, esta pode ser substituída e desobstruída com recurso a ultrasons.

Deve ser ainda assegurado o correto funcionamento do sistema de arrefecimento do detetor, assegurando que este mantém um nível de fluido de transferência de calor e uma pressão adequadas.

Conclusões

O objetivo principal do estudo foi atingido, tendo sido recolhida e processada informação suficiente para o processo de validação do método analítico para águas de consumo. O objetivo secundário, que consiste na validação do método analítico para águas superficiais não pôde ser concluído devido à interrupção prematura do estágio provocada por incêndio no edifício onde o laboratório se encontra inserido, conduzindo ao encerramento das instalações.

O método de ensaio foi desenvolvido com base no método já acreditado e implementado no laboratório (ME 29.06), seguindo uma abordagem faseada (embora combinando algumas das fases quando tal permitiu agilizar o desenvolvimento do método), com um processo de otimização instrumental que possibilitou a adição de novos elementos que anteriormente não eram analisados por ICP-OES neste laboratório e a melhoria de alguns dos limites de quantificação dos elementos anteriormente analisados (salientando-se o caso do fósforo, com LQ reduzido de 50 para 25 $\mu\text{g L}^{-1}$), implicando no entanto um maior consumo de argon.

Foram definidas, após estudo de interferências, linhas analíticas para os elementos em estudo, sendo garantida a sua linearidade (sendo que em alguns casos a obtenção de linearidade implicou a redução de gamas de trabalho) e foram analisados MRC e amostras fortificadas para determinação da incerteza do método em condições de precisão intermédia, tendo sido cumprido o objetivo definido (incerteza inferior a 20% em toda a gama de trabalho). Idealmente, teriam sido recolhidos mais resultados de forma a poder preencher as cartas de controlo e efetuar um estudo de duplicados e recuperações.

Em paralelo a todo este processo ocorreu uma formação contínua sobre manuseamento de equipamento, preparação de soluções, conhecimentos teóricos e procedimentos analíticos indispensável para a realização com sucesso deste estudo.

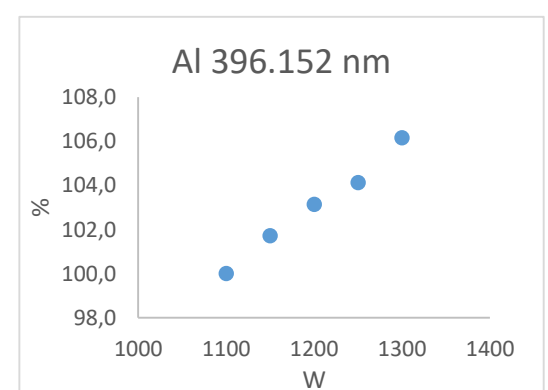
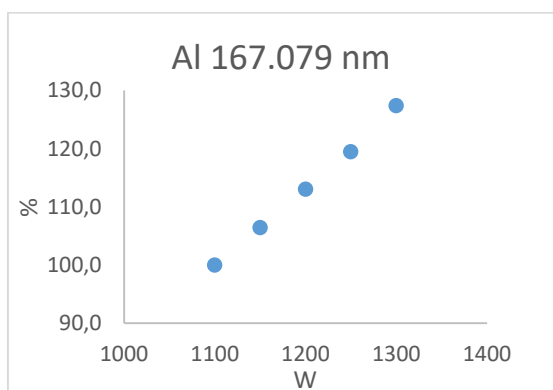
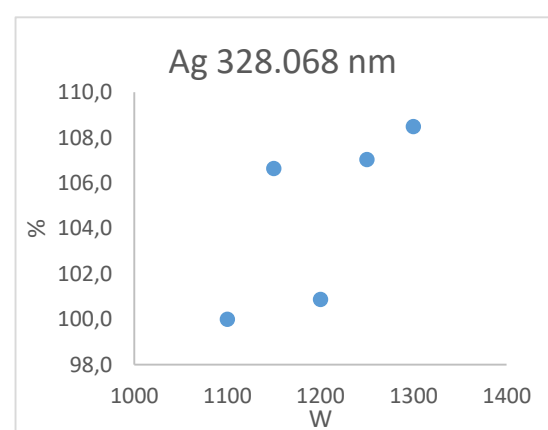
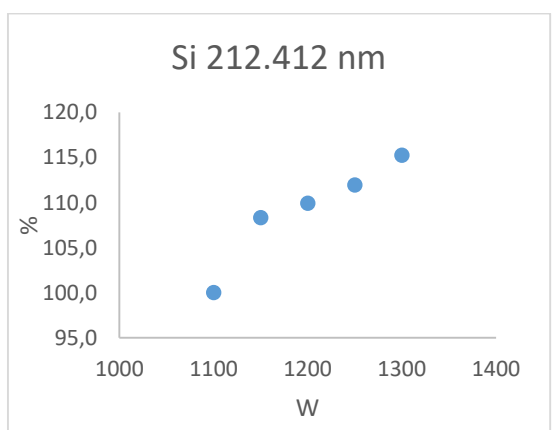
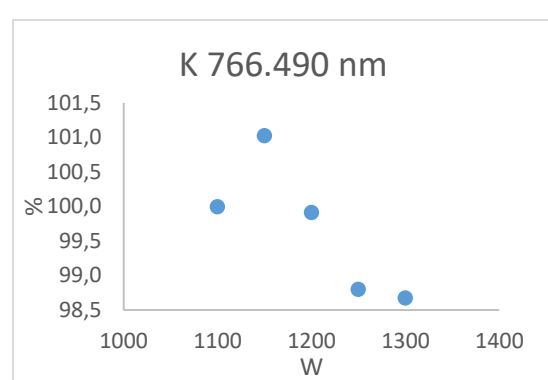
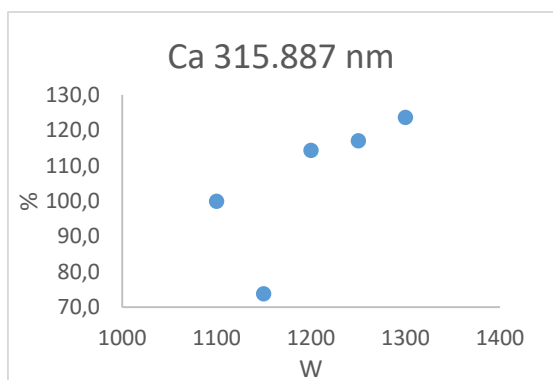
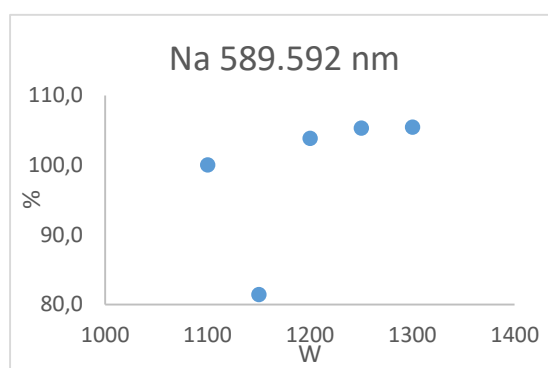
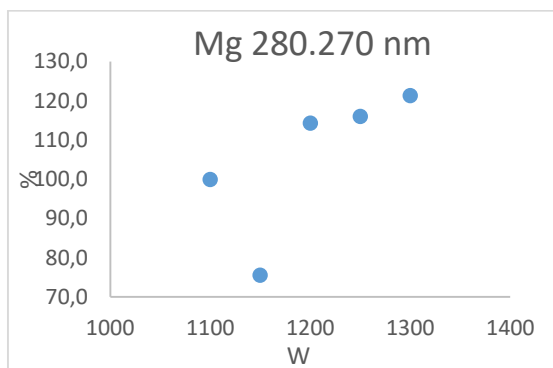
O método obtido é robusto, tendo participado com sucesso em três ensaios interlaboratoriais, e apresenta ganhos em termos de sensibilidade e tempos de leitura por amostra em relação ao método existente, podendo no futuro ser validado para análise de águas superficiais. O método aqui descrito será submetido para acreditação pelo IPAC. O laboratório propõe-se ainda, baseando-se neste método (assim como no já acreditado ME 29), o desenvolvimento de um método para análise de águas brutas com o mesmo equipamento.

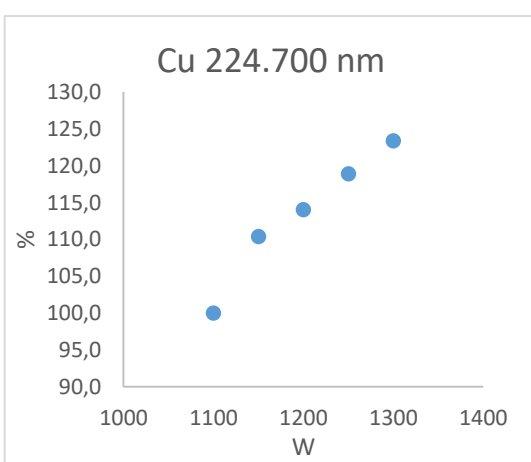
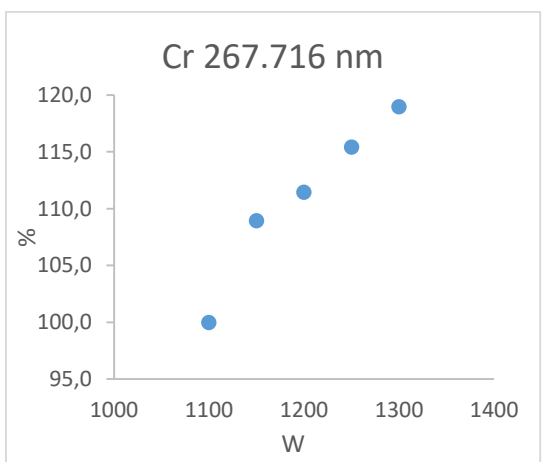
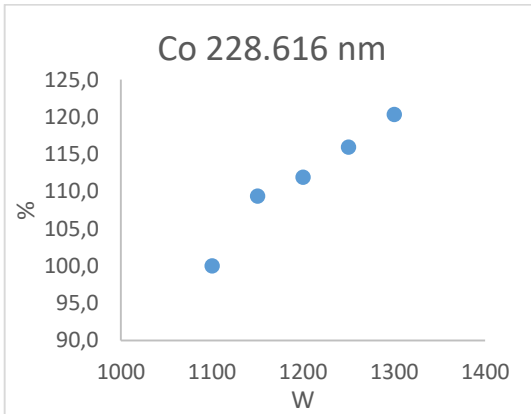
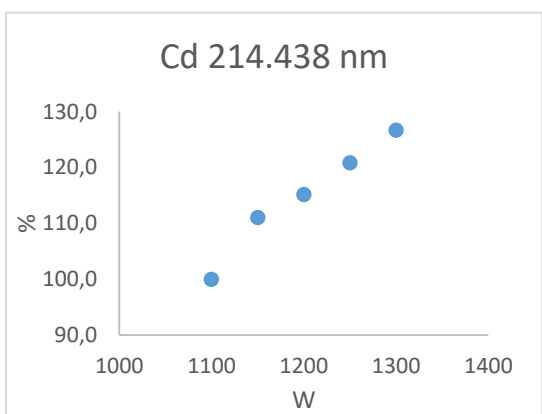
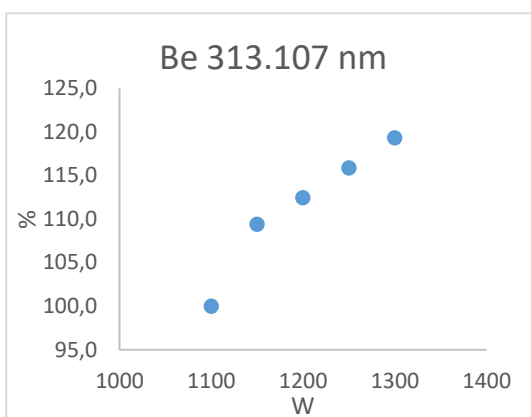
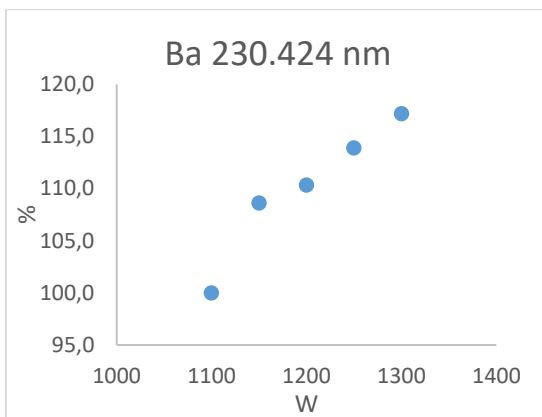
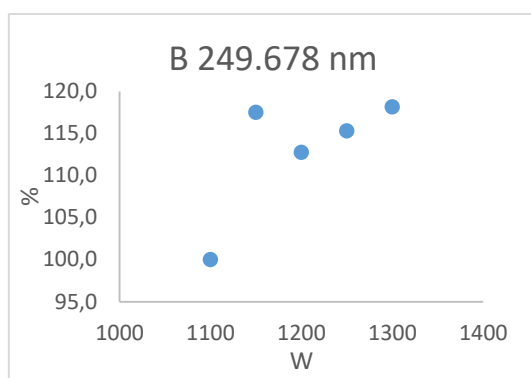
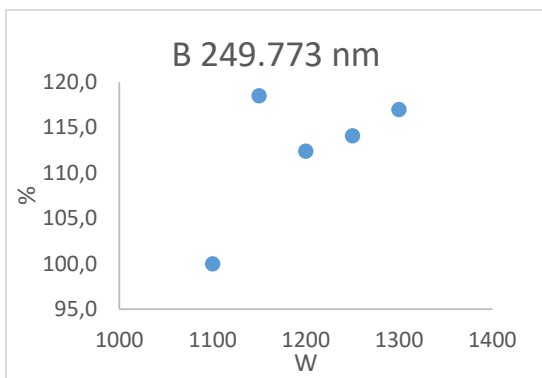
Bibliografia

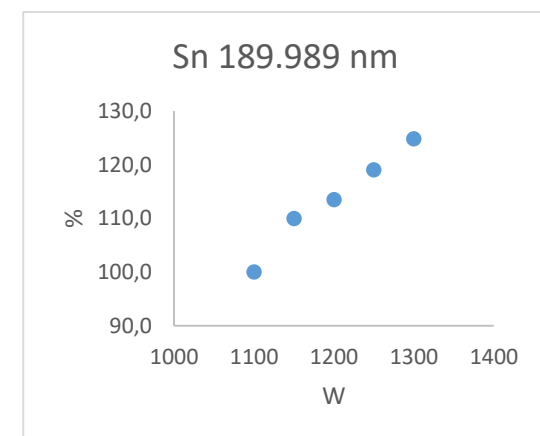
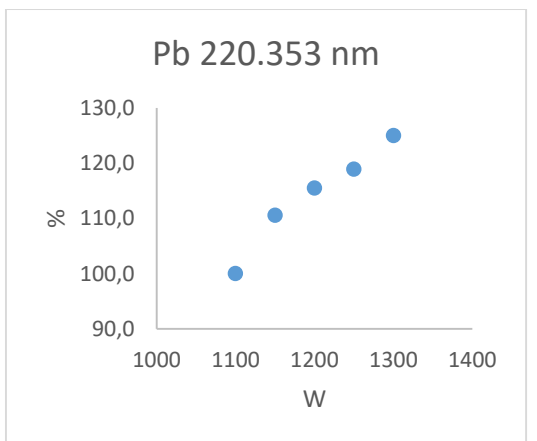
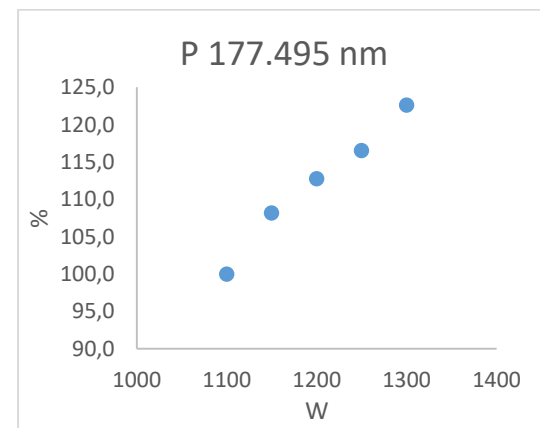
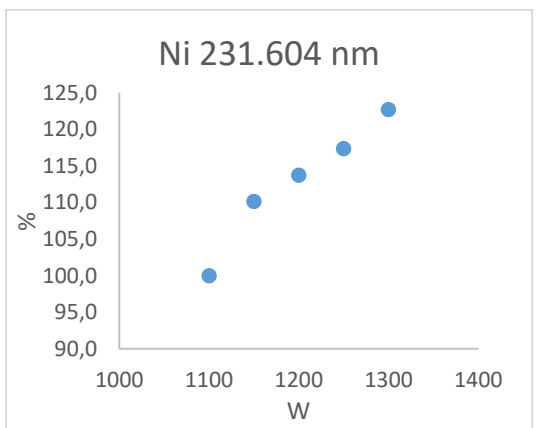
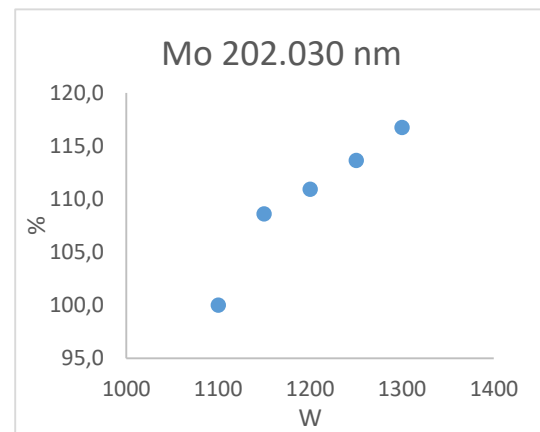
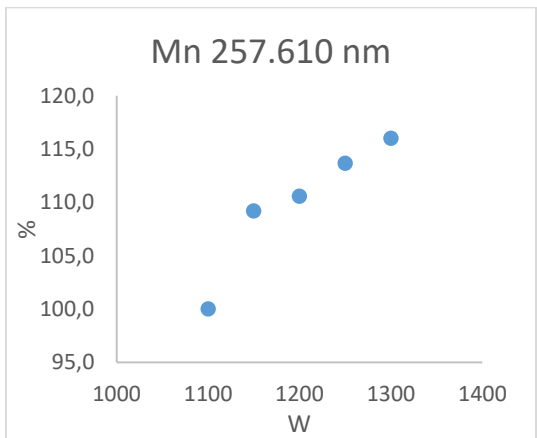
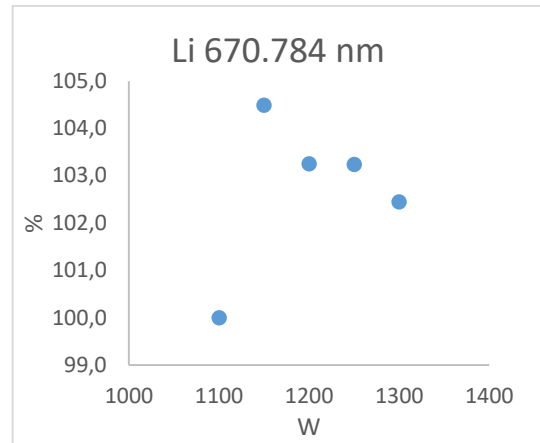
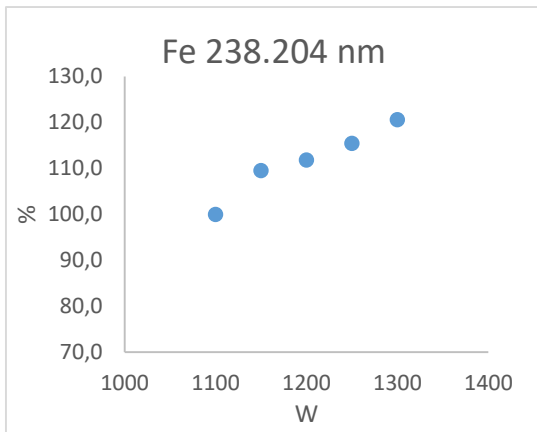
- [1] V. K. Karandashev, A. Yu. Leikin, V. A. Khvostikov, N. K. Kutseva, S. V. Pirogova, *Water Analysis by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, in *Inorganic Materials*, Vol 52 (2016), p. 1391-1414
- [2] J. A. C. Broekart, *The application of ICP-OES to industrial analytical problems*, in *Trends in Analytical Chemistry*, Vol 1 n. 11 (1982), p. 249–253
- [3] M.A. Barreiros, M. L. Carvalho, M. M. Costa, M. I. Marques, M. T. Ramos, *Application of Total Reflection XRF to Elemental Studies of Drinking Water*, in *X-Ray Spectrometry*, Vol 26 (1997), p. 165-168
- [4] M. F. Giné-Rosias, *Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Acoplado Indutivamente - ICP-AES*, Centro de energia nuclear para a agricultura (1998)
- [5] J.M. Harnley, R. E. Fields, *Solid-State Array Detectors for Analytical Spectrometry*, in *Applied Spectroscopy*, Vol 51 (1997), p. 334-351
- [6] B. S. S. Kiran, S. Raja, *A Review on Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (Icp-Oes) with a Special Emphasis on its Applications*, in *Der Pharmacia Lettre*, Vol 9 n. 11, (2017), p. 44-54
- [7] A. Tame, D. Hoobin, *Direct Analysis of Milk Powder by Axially-Viewed Simultaneous ICP-OES*, in *ICPES-26* (2010) p. 1-4
- [8] R.M de Souza, L. G. Leocádio, C. L. P. Da Silveira, *ICP OES Simultaneous Determination of Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, Na and P in Biodiesel by Axial and Radial Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry* in *Analytical Letters*, Vol 41, n. 9 (2008), p. 1615-1622
- [9] A. Sanz-Medel, J. E. S. Uría., A. M. García, *Continuous aspiration and flow injection in atomic emission plasma spectrometry* in *Analytical Spectroscopy Library* Vol 9 (1999), p 274–306.
- [10] F. Laborda, M. T. C. de Loos-Vollebreg, L. de Galan, *Coupling of HPLC and ICP-AES for speciation*, in *Spectrochimica Acta*, Vol 46B n. 6/7 (1991) p. 1089-1098
- [11] Y. Morishige, A. Kimura, *Ionization Interference in Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectroscopy*, *SEI Technical Review* 66 p. 106-111, Abril 2008
- [12] US EPA, *Method 200.7, Revision 4.4: Determination of Metals and Trace Elements in Water and Wastes by Inductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry* (1994)
- [13] IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology*, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997)
- [14] ISO International Standard 11352:2012: *Water quality- Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data*
- [15] ISO International Standard 8466-1:1990: *Water quality- Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristi*

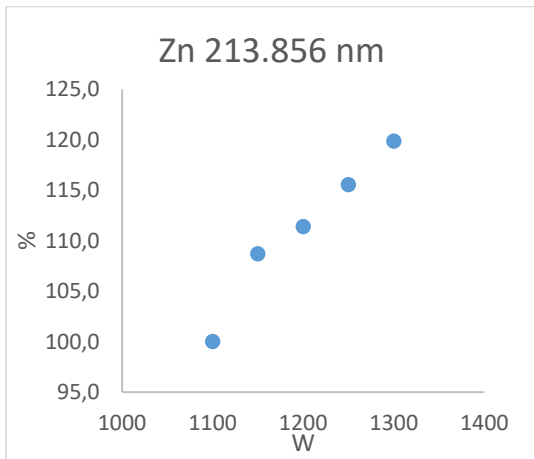
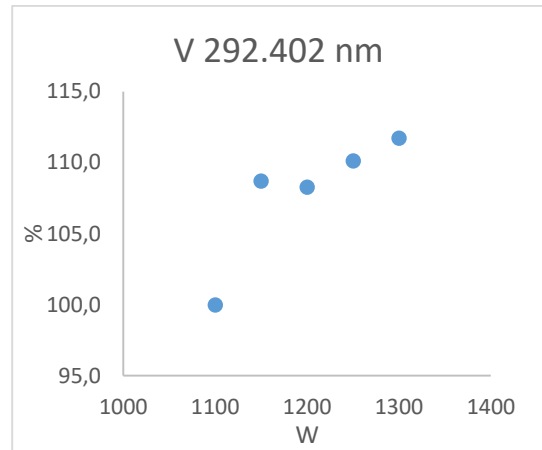
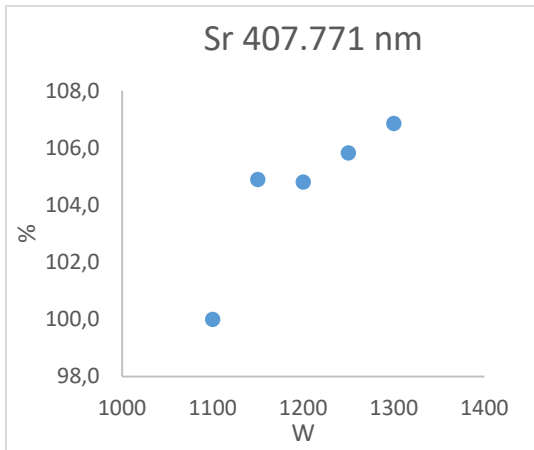
Anexos

Anexo I – Otimização da potência do gerador RF

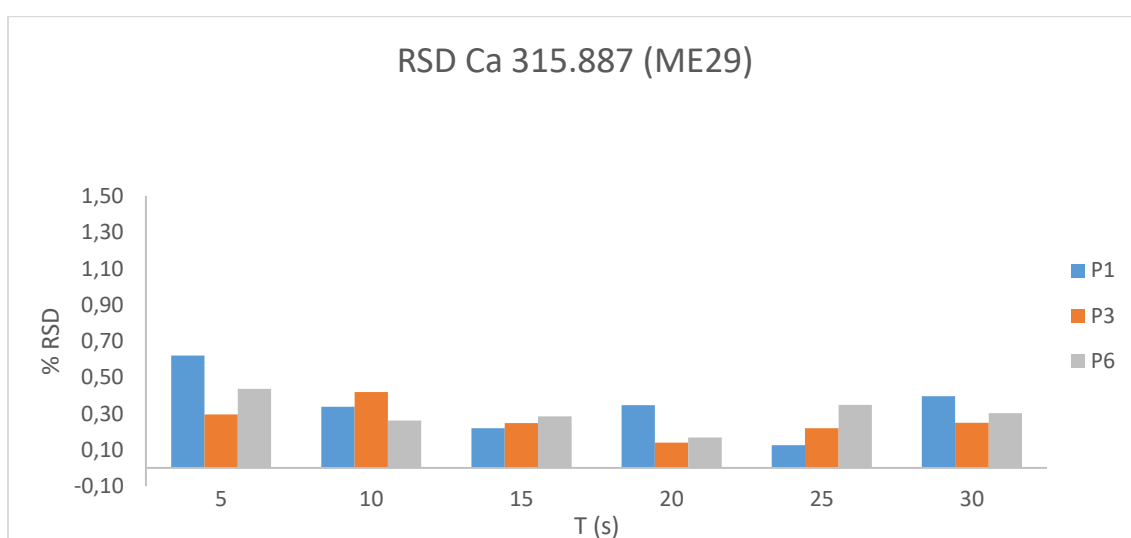
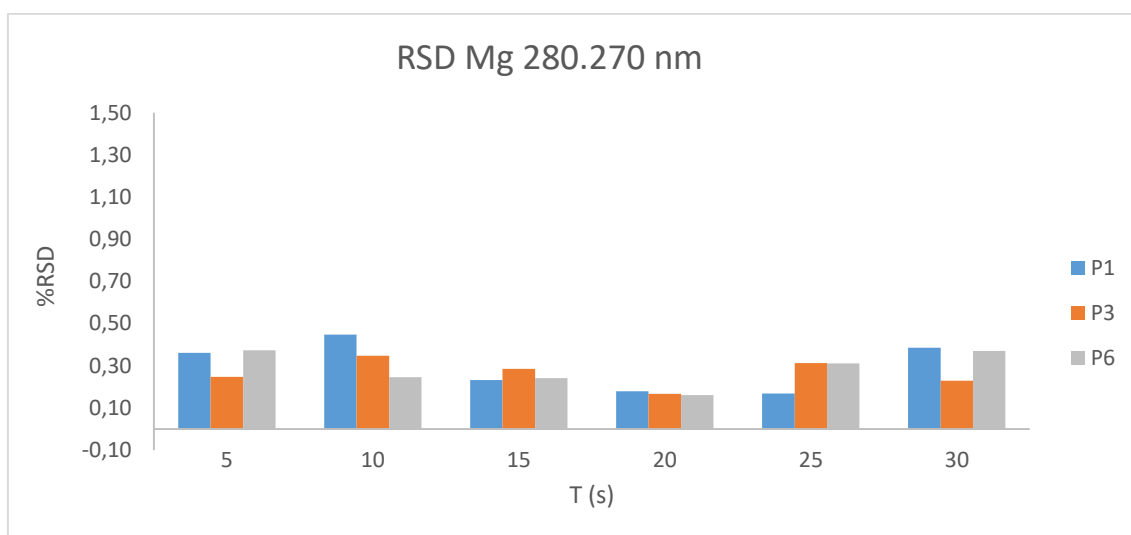
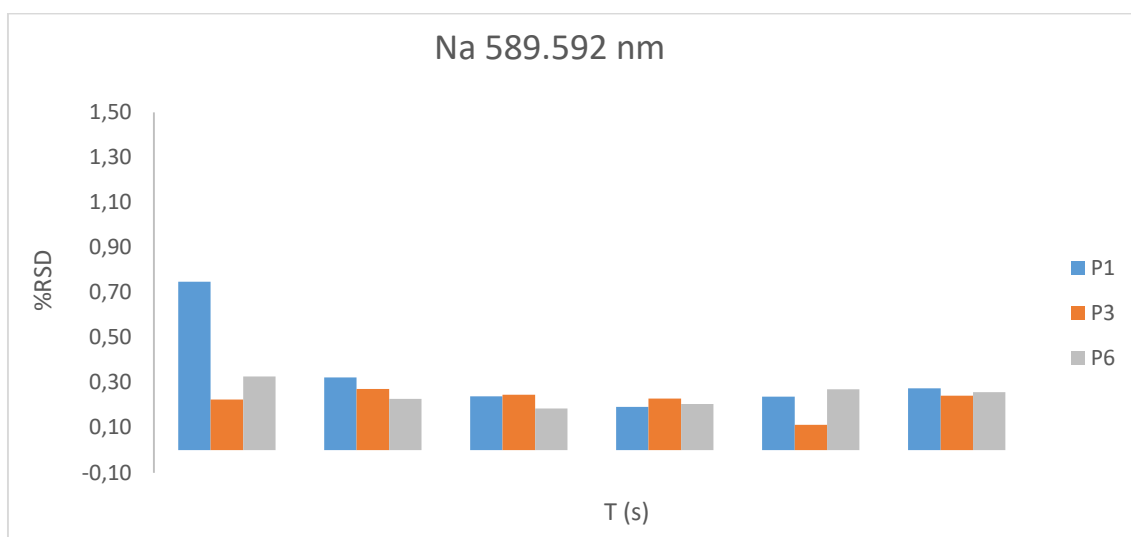


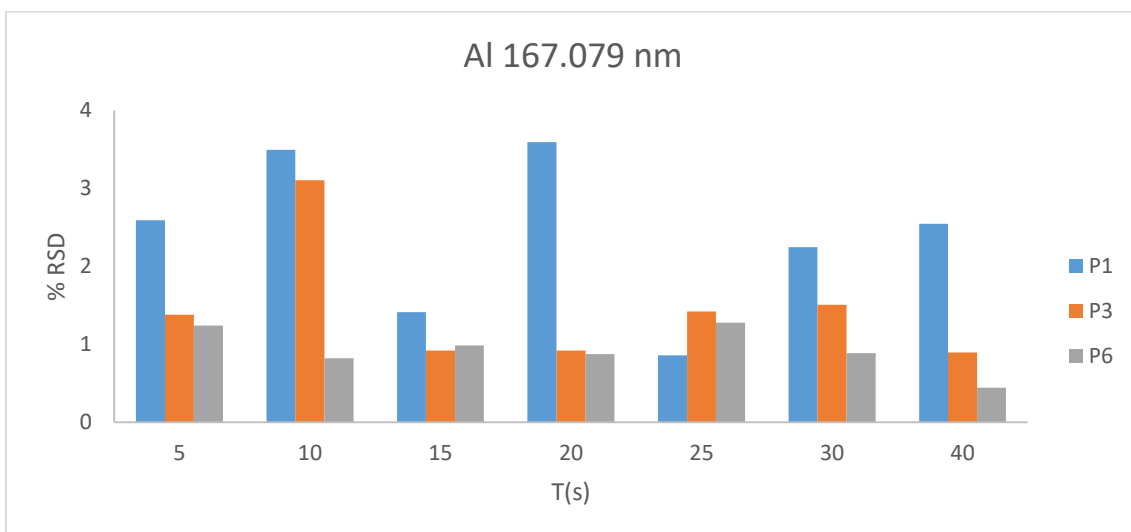
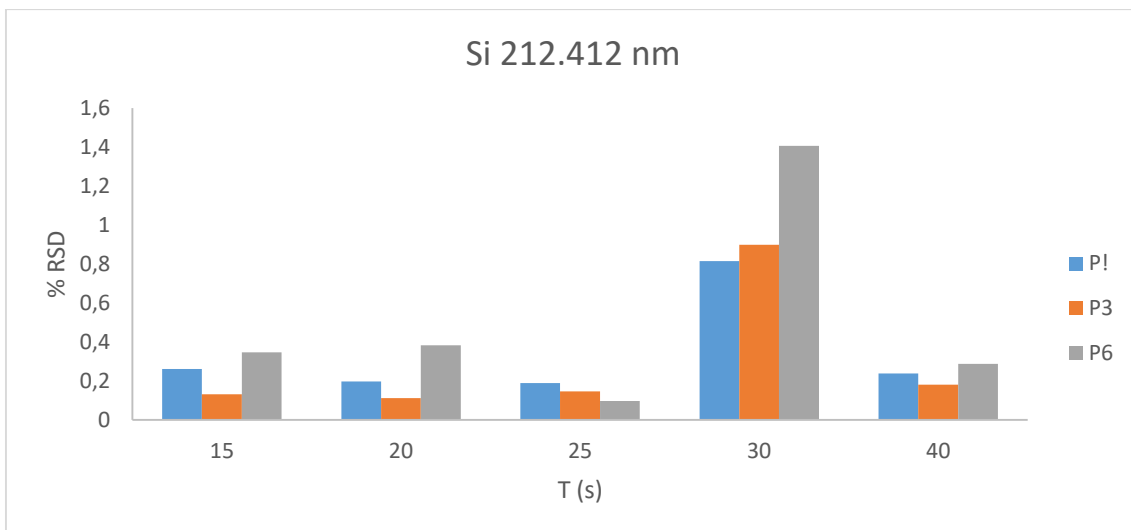
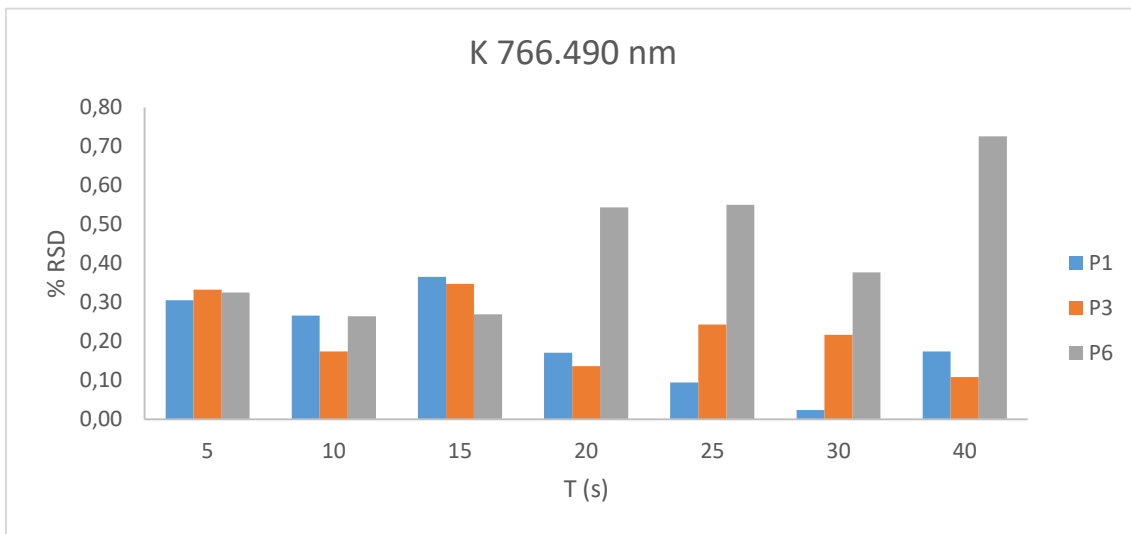


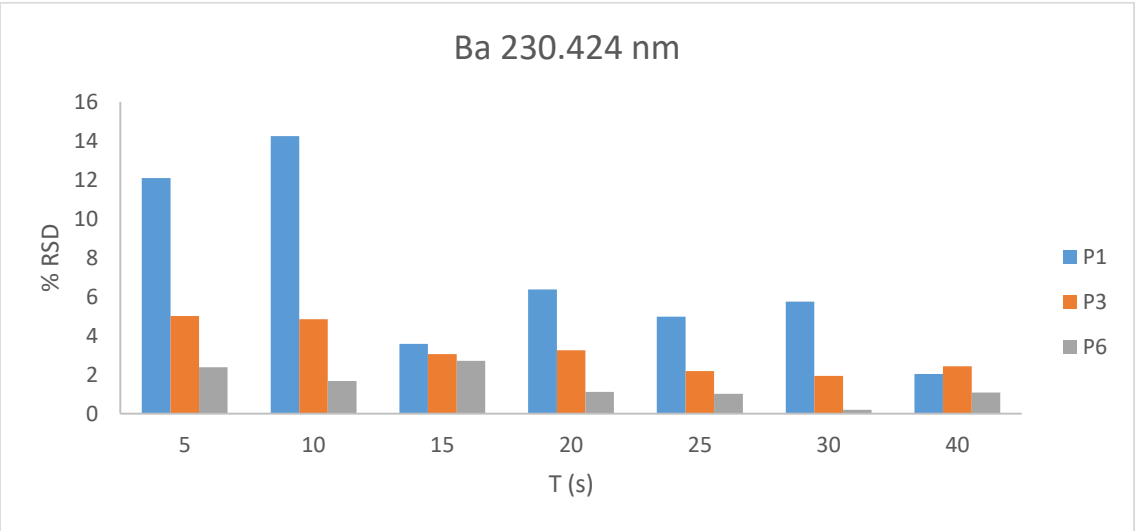
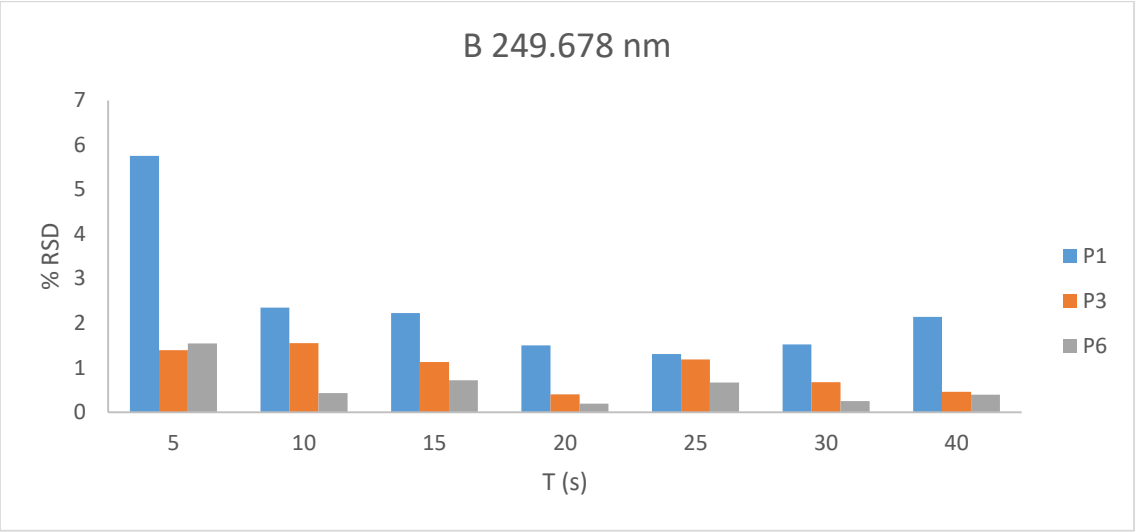
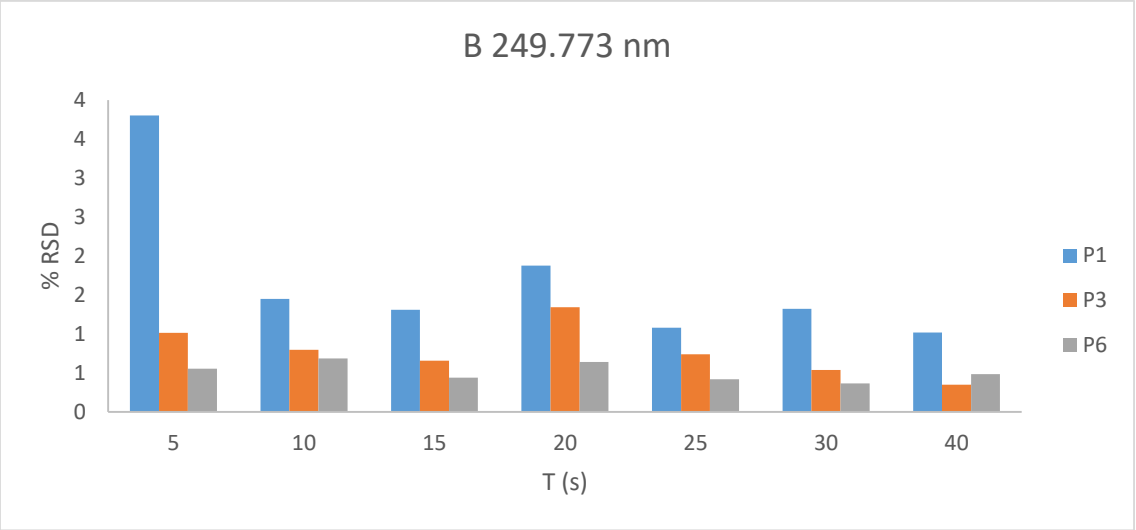


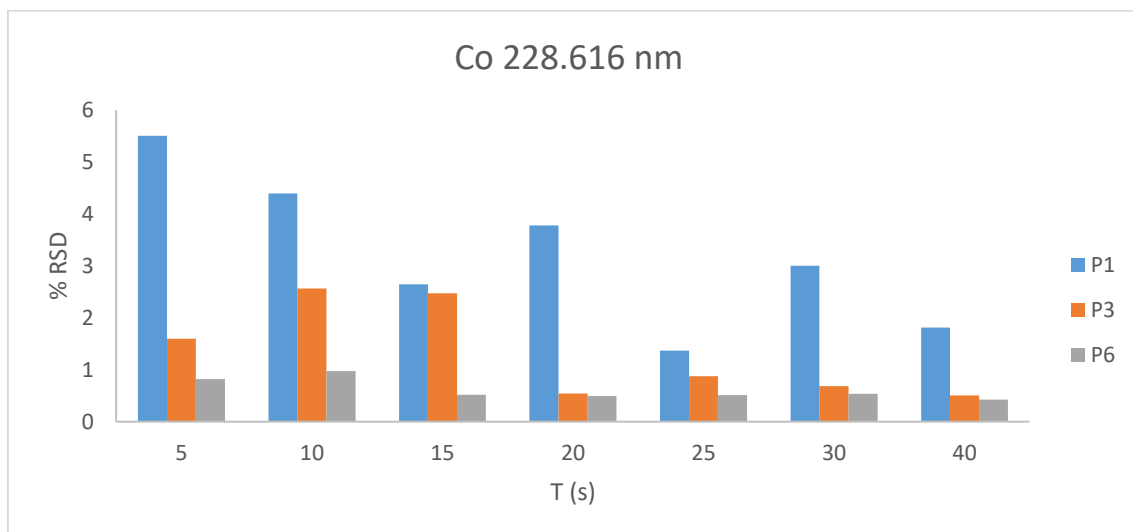
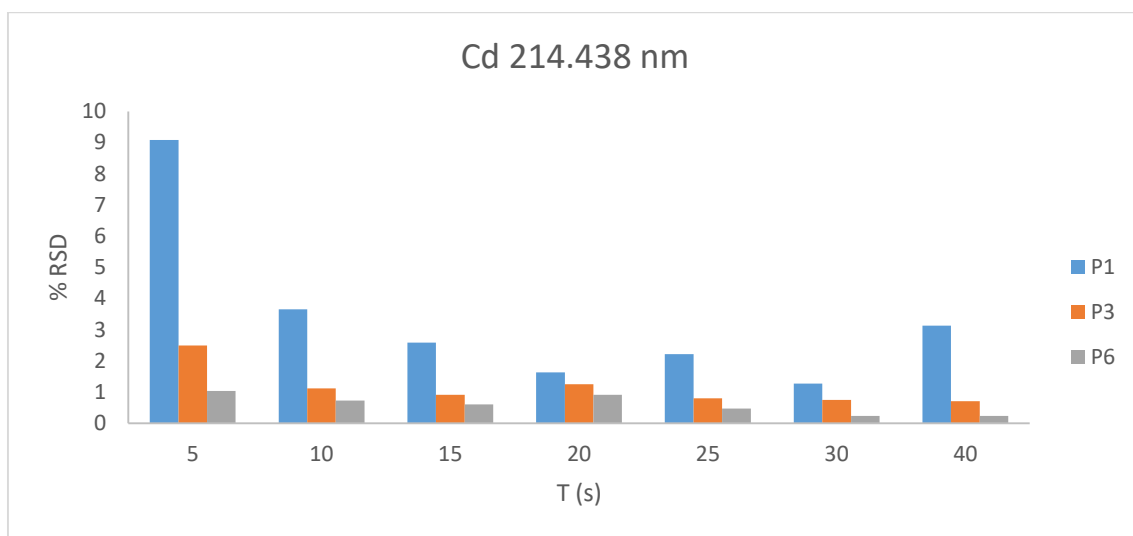
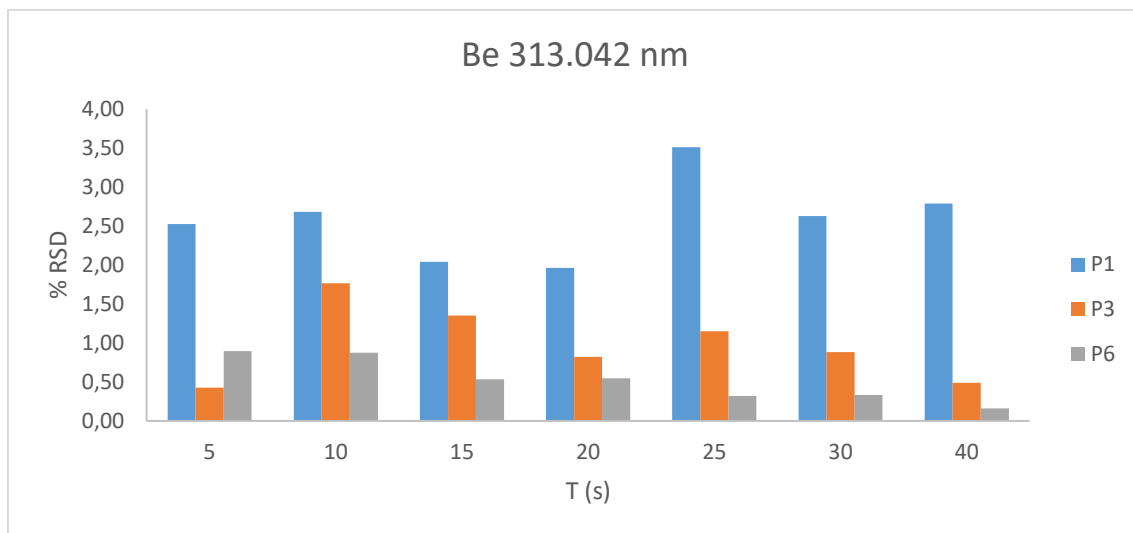


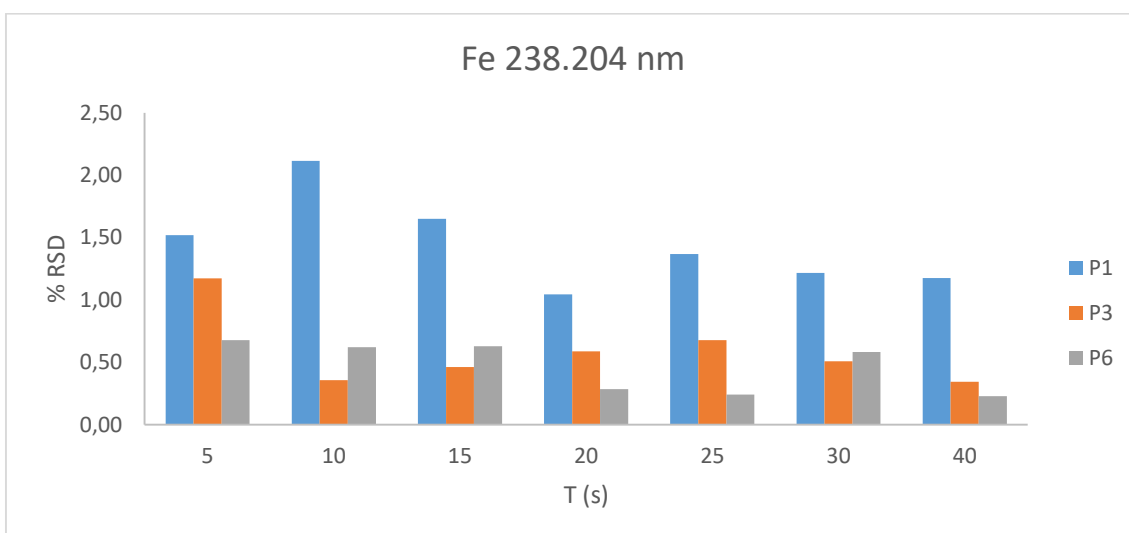
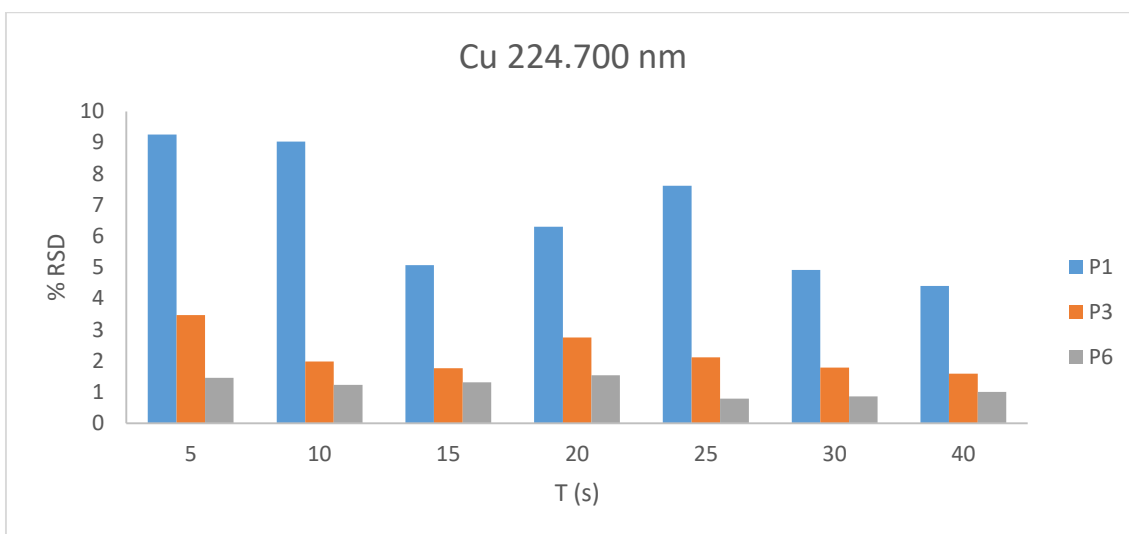
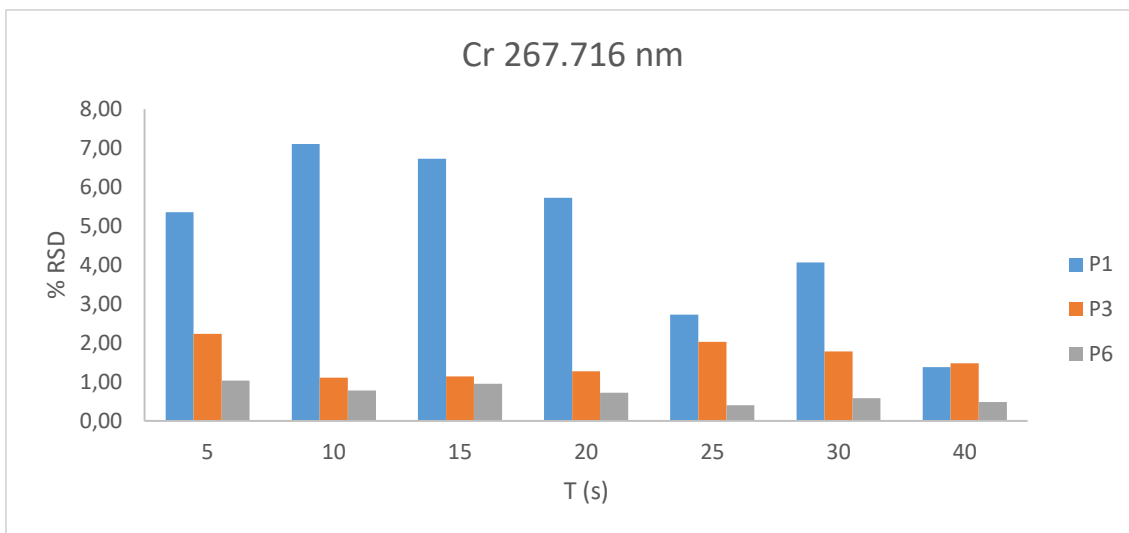
Anexo II – Otimização dos tempos de integração

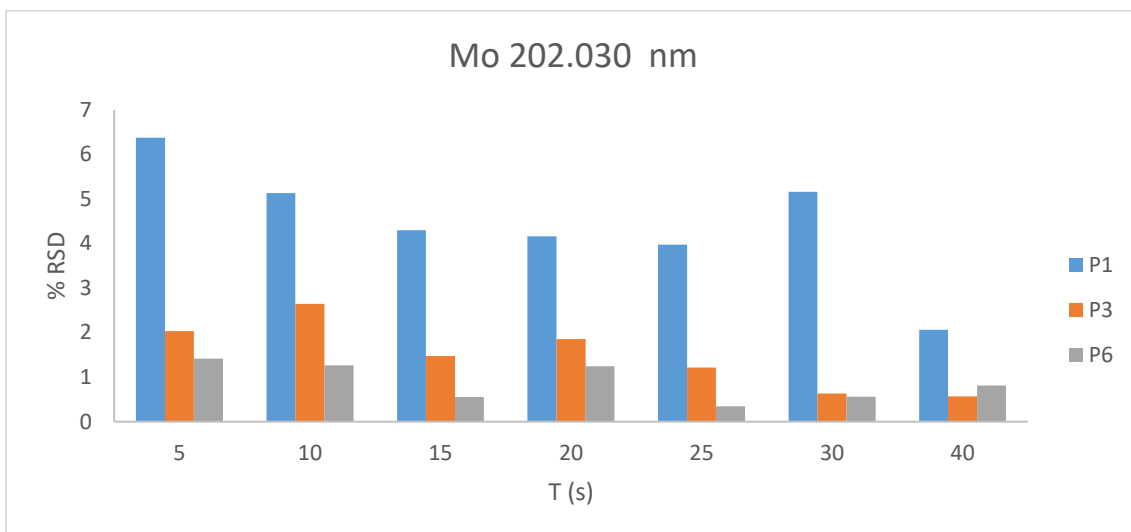
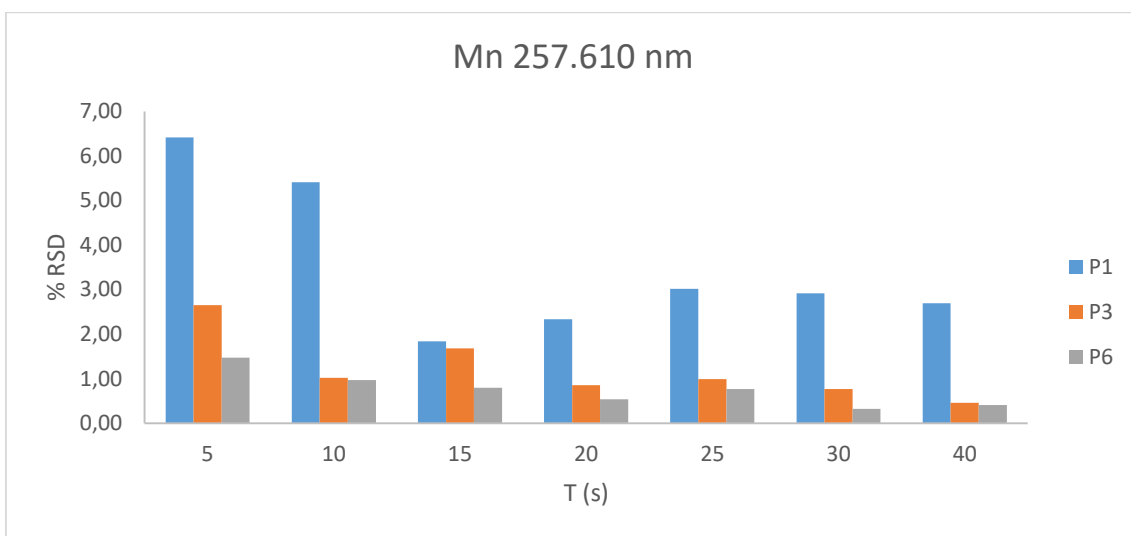
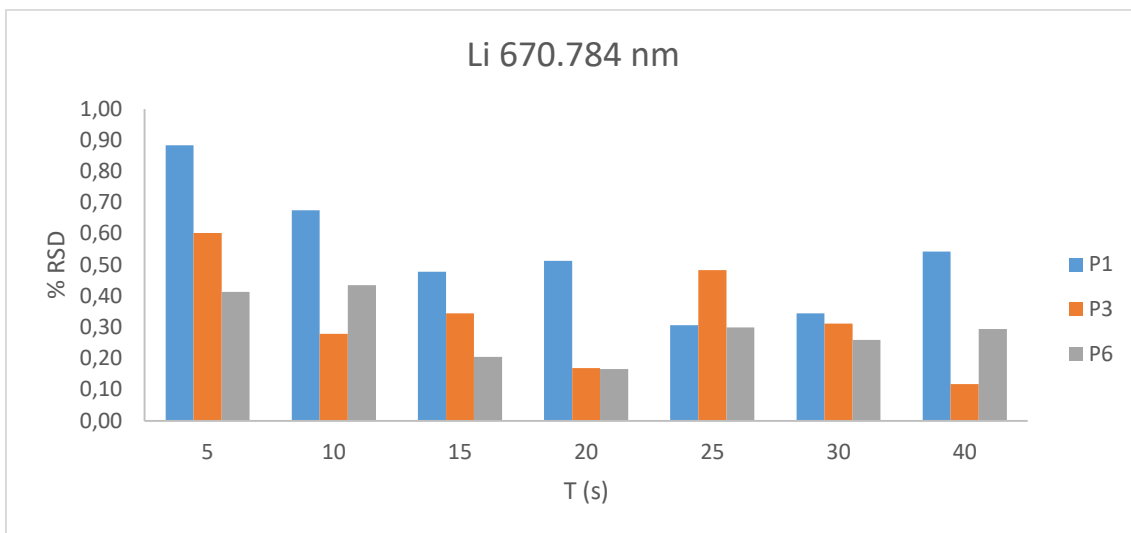


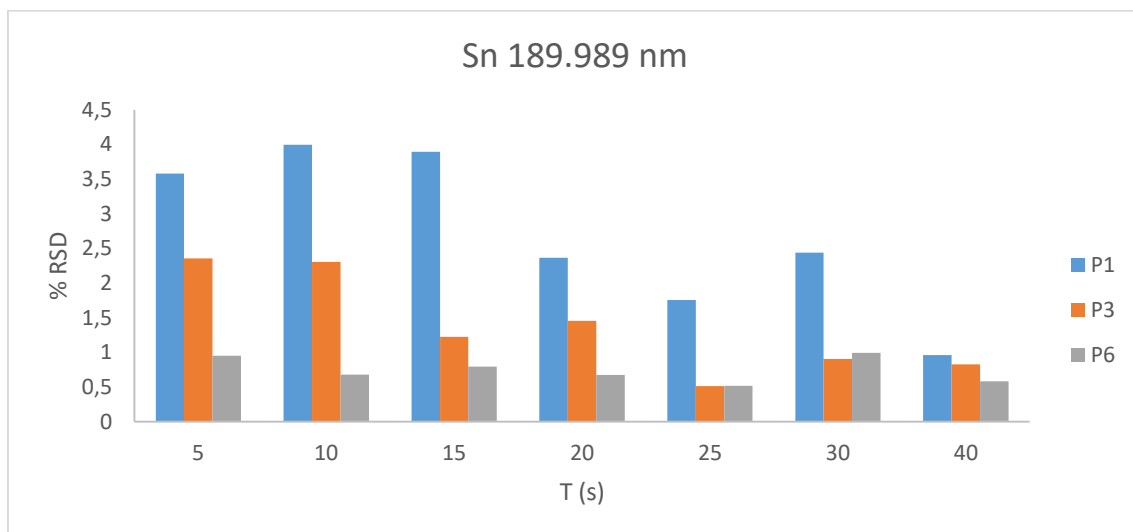
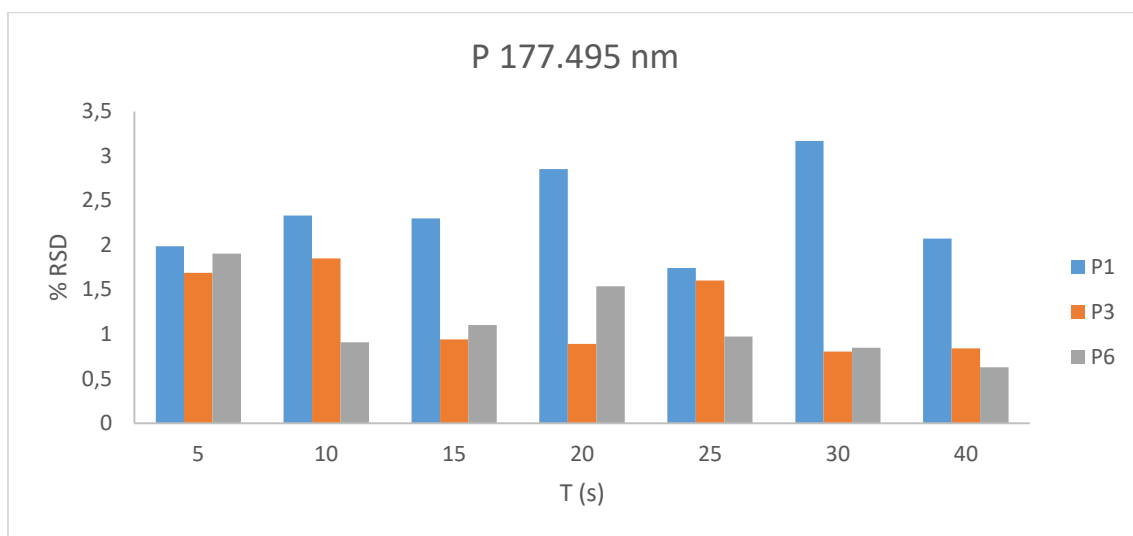
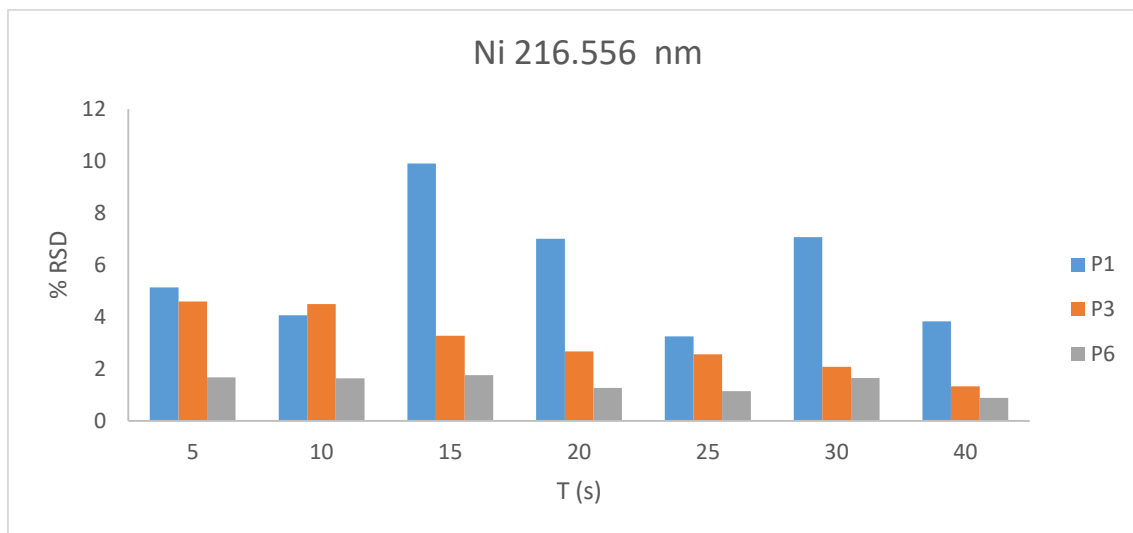


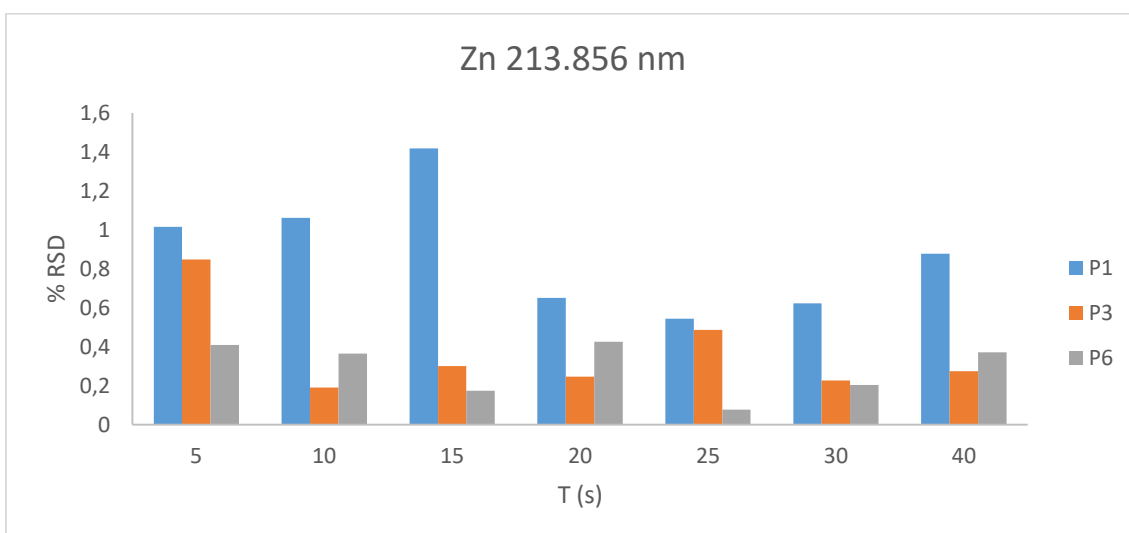
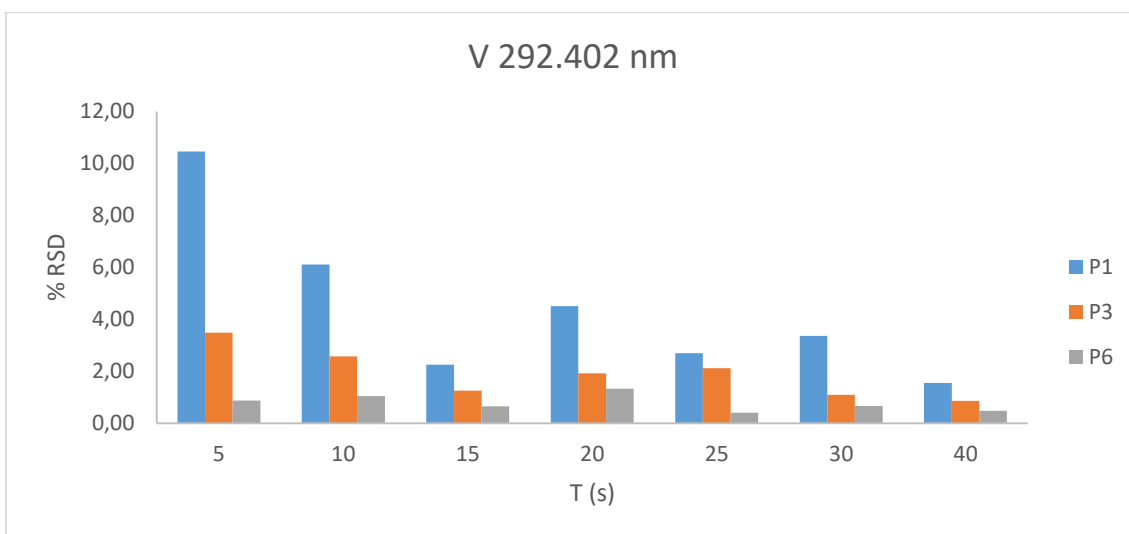
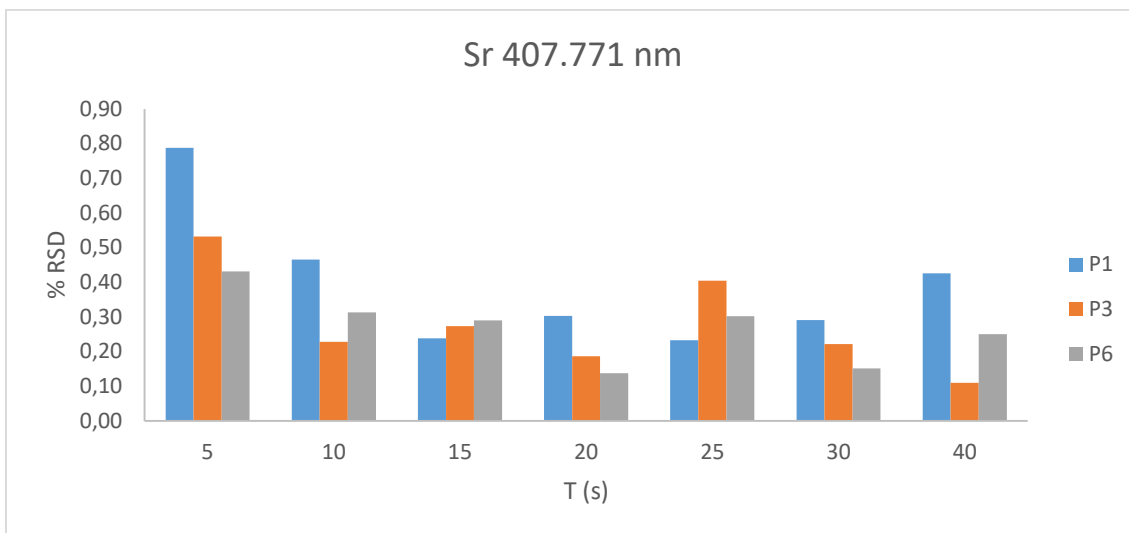






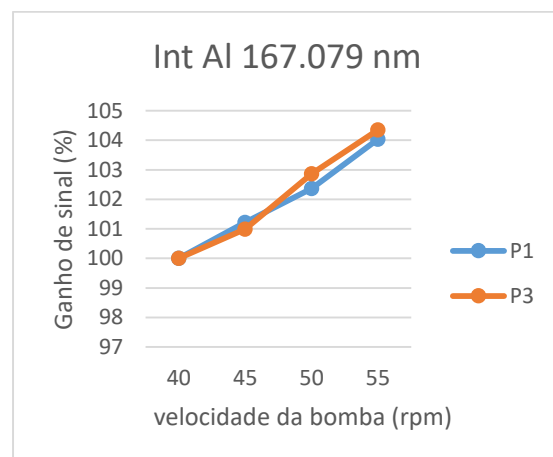
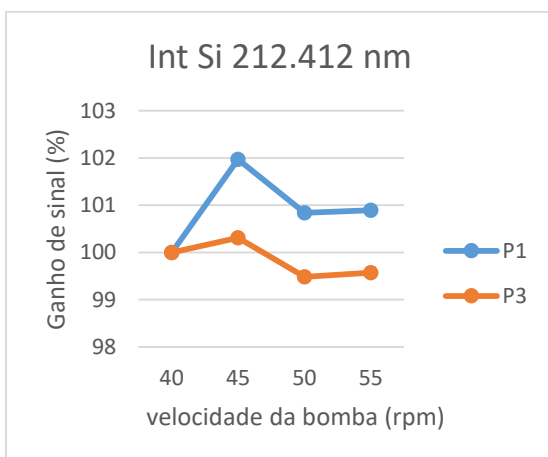
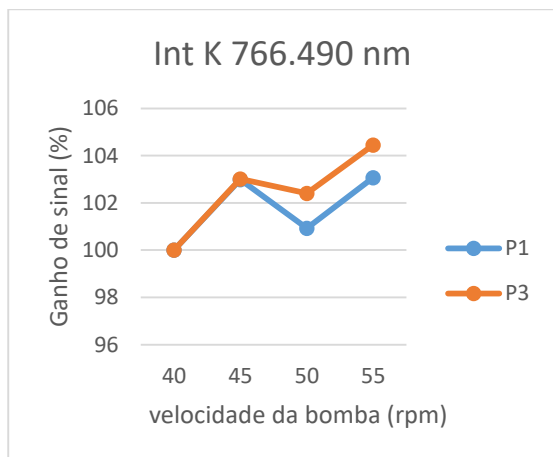
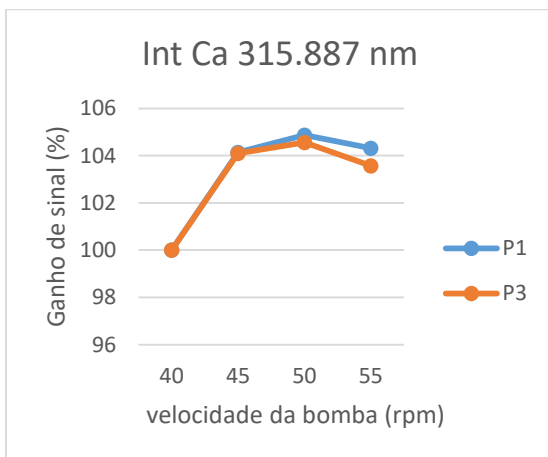
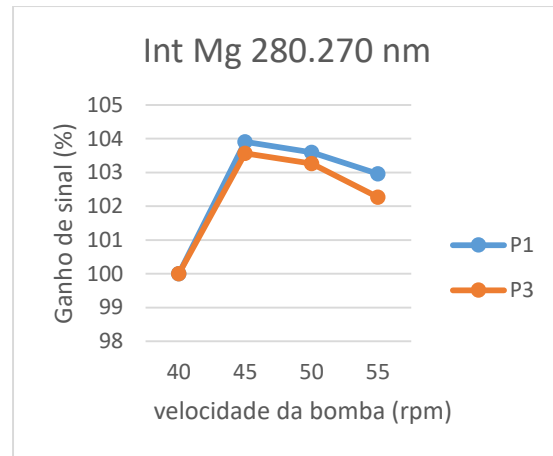
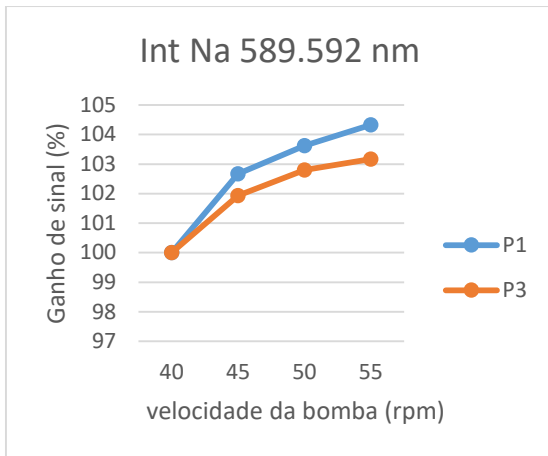


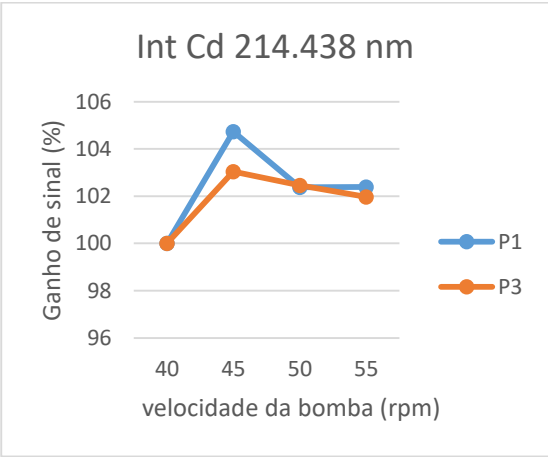
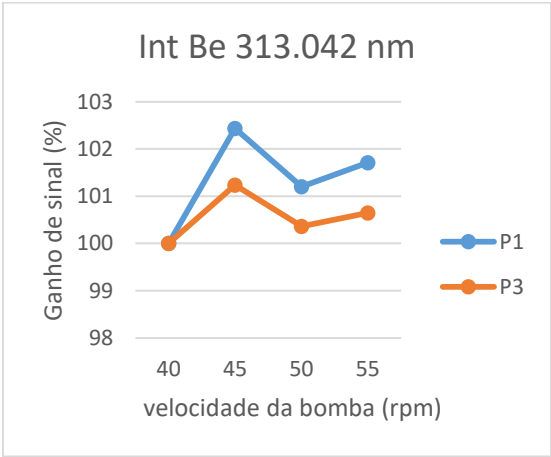
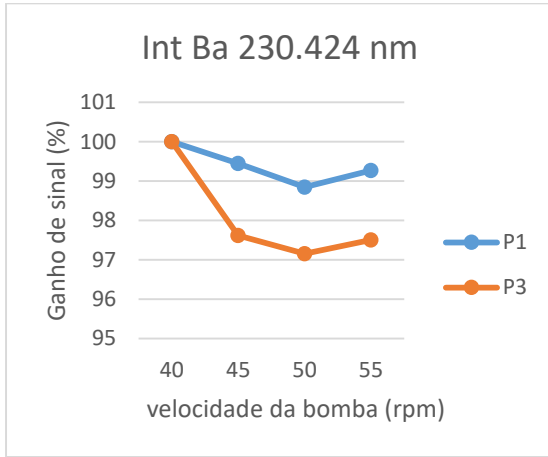
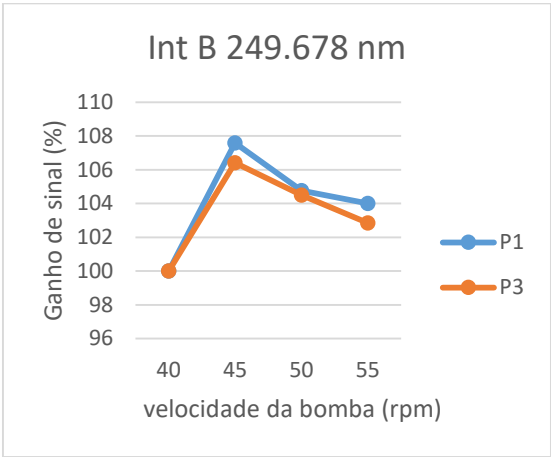
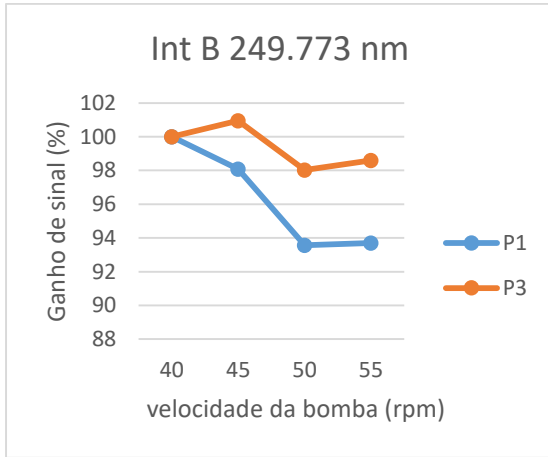
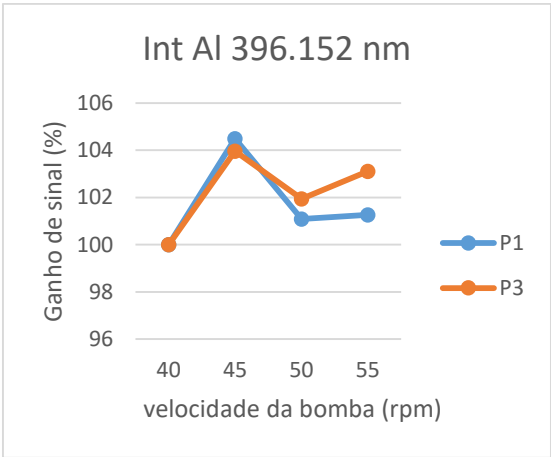


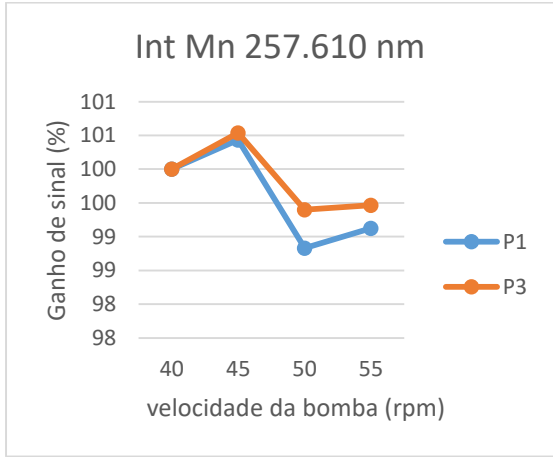
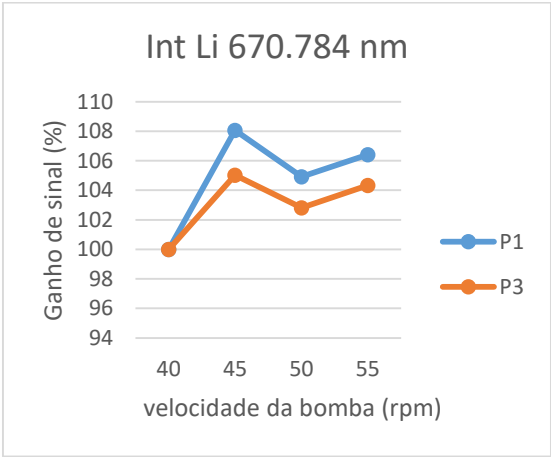
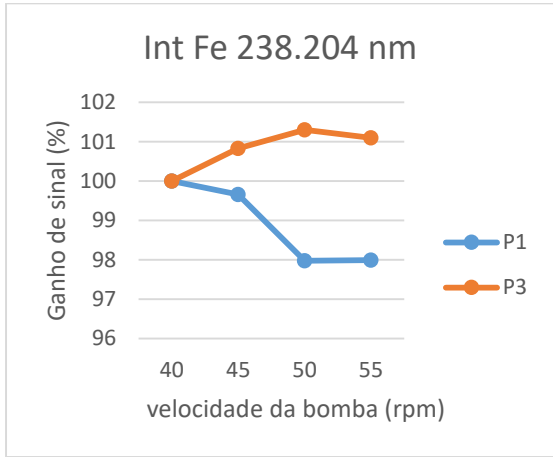
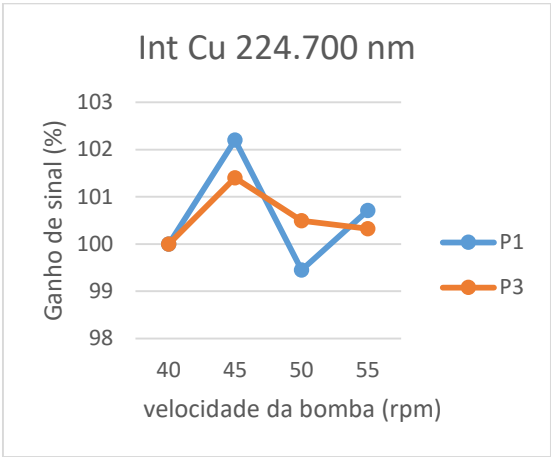
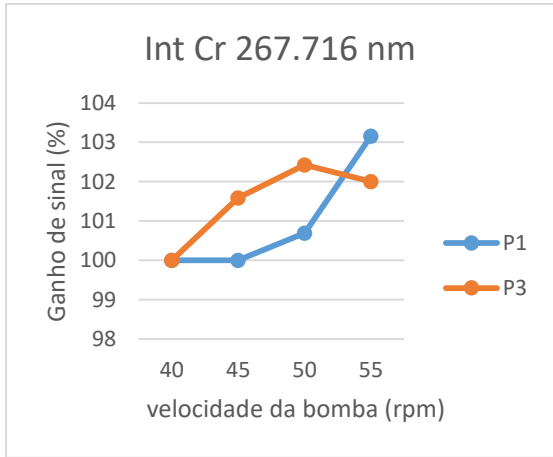
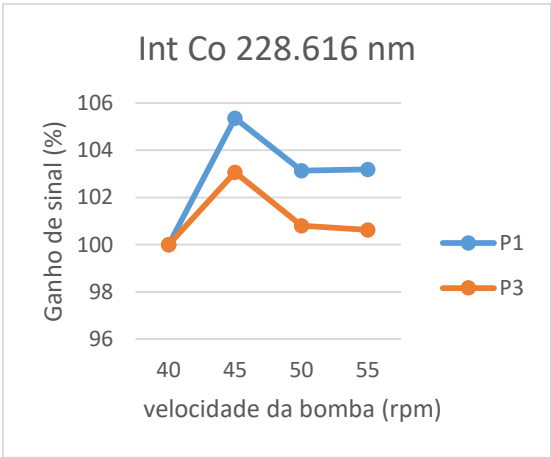


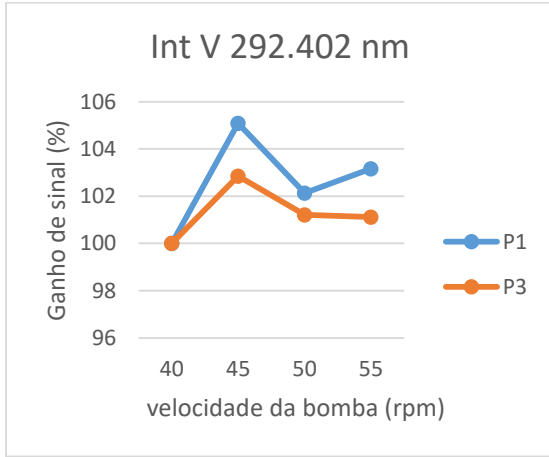
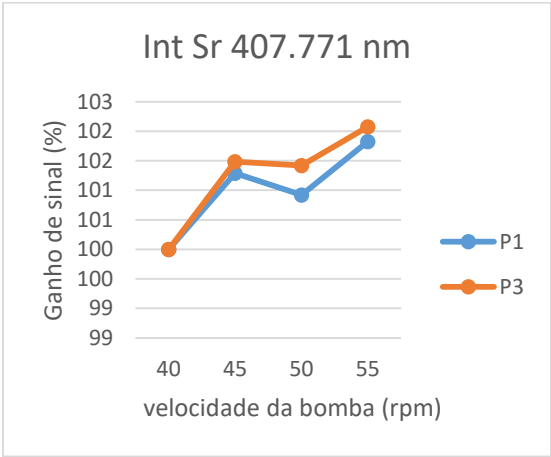
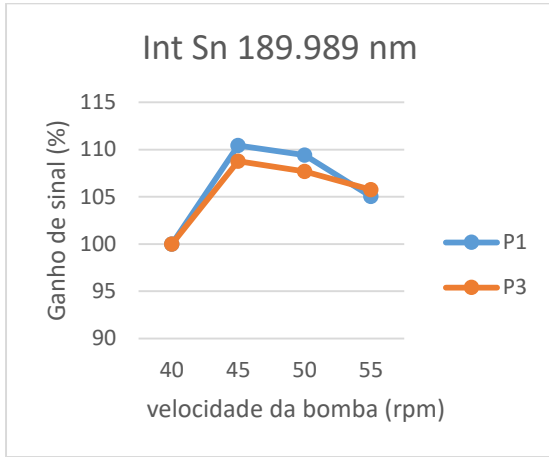
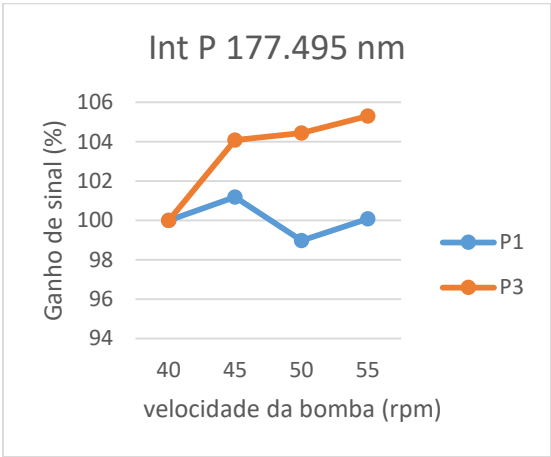
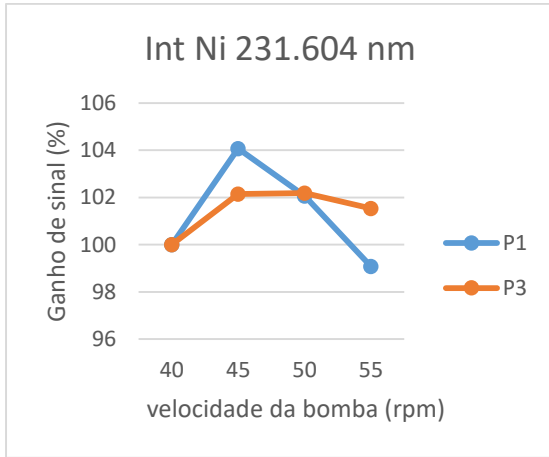
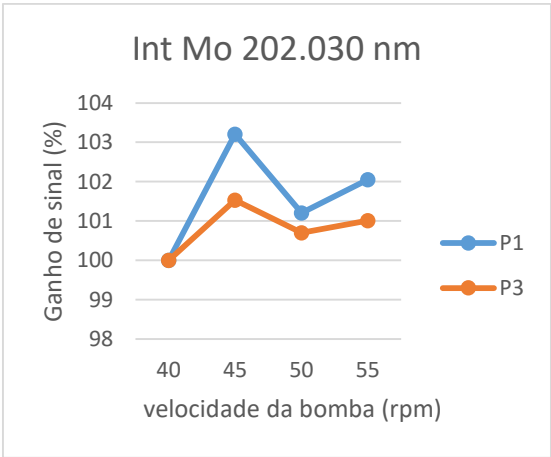
Anexo III – Otimização da velocidade da bomba peristáltica

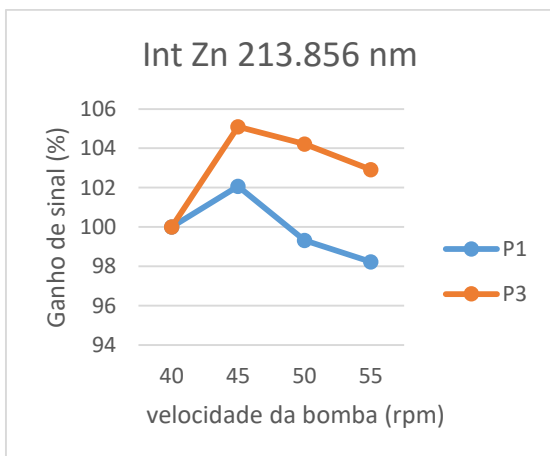
Variação de sinal



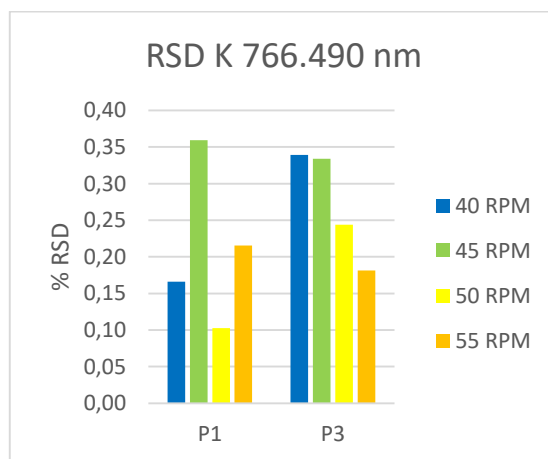
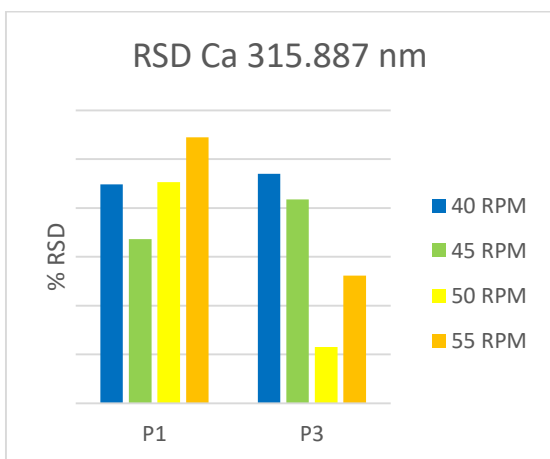
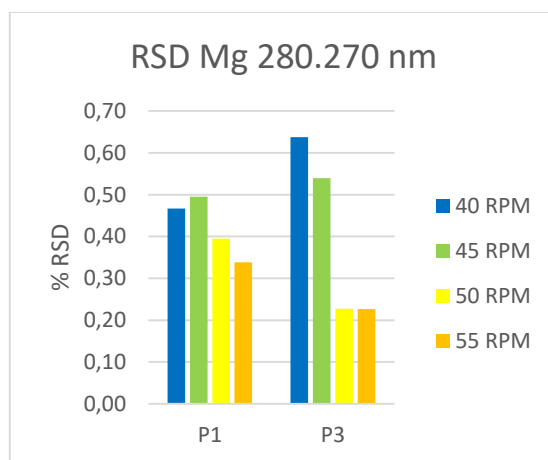
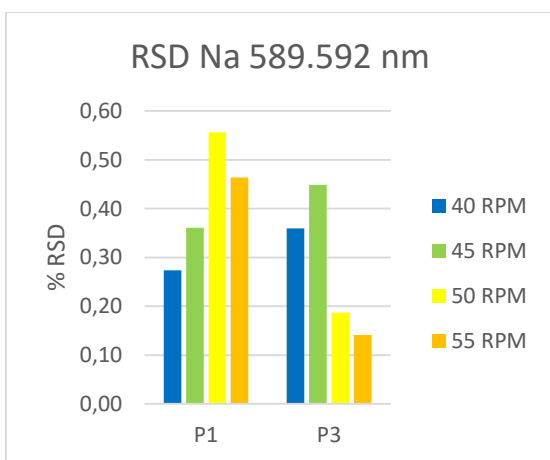


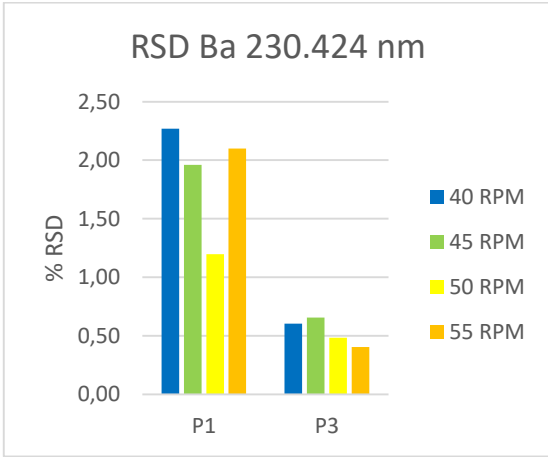
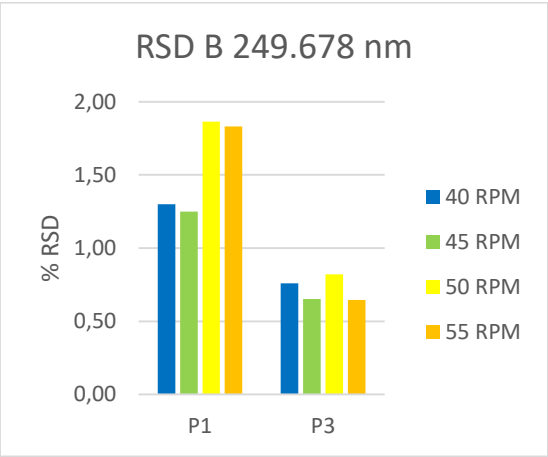
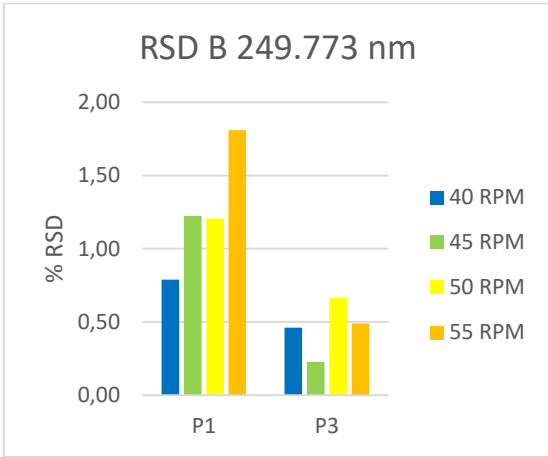
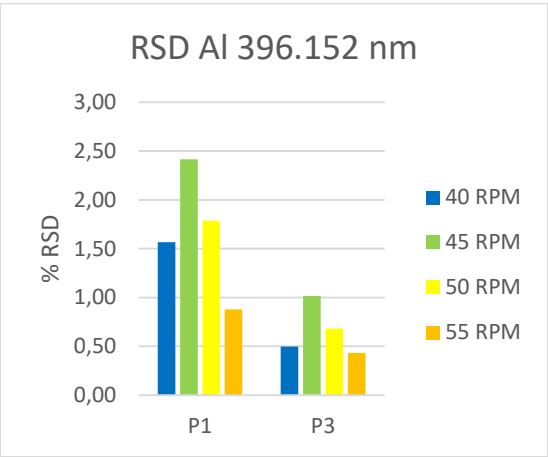
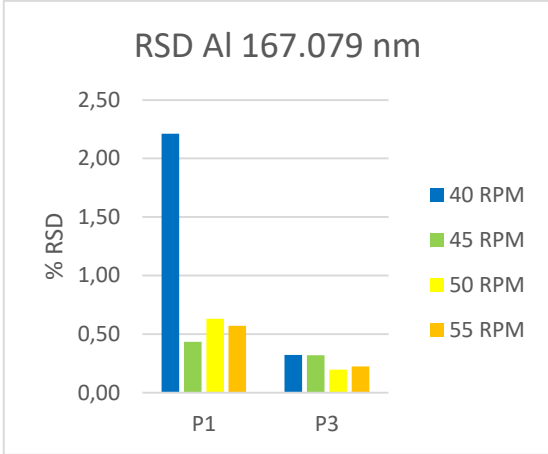
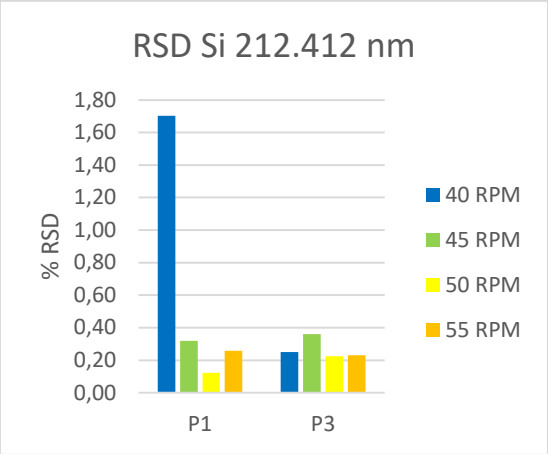


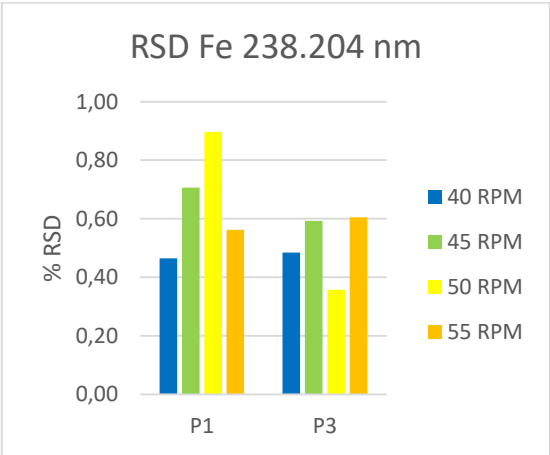
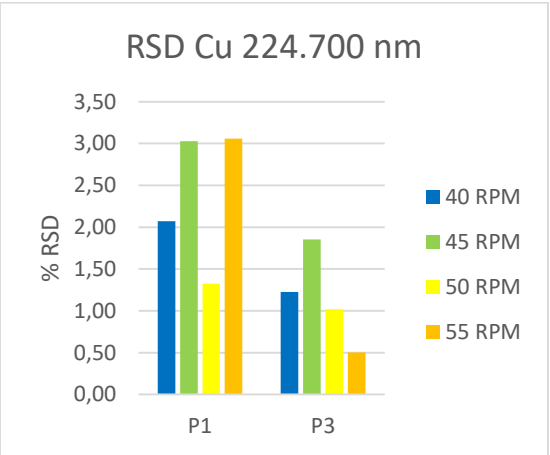
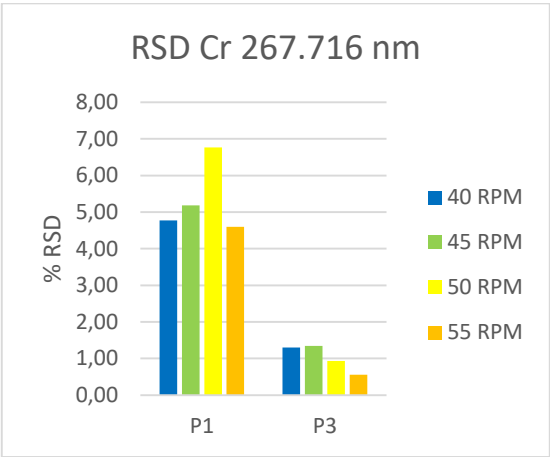
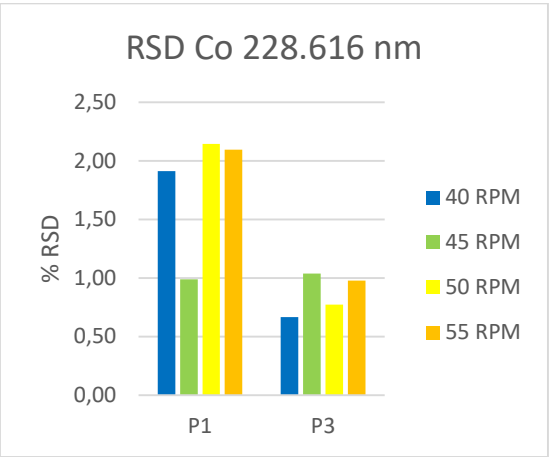
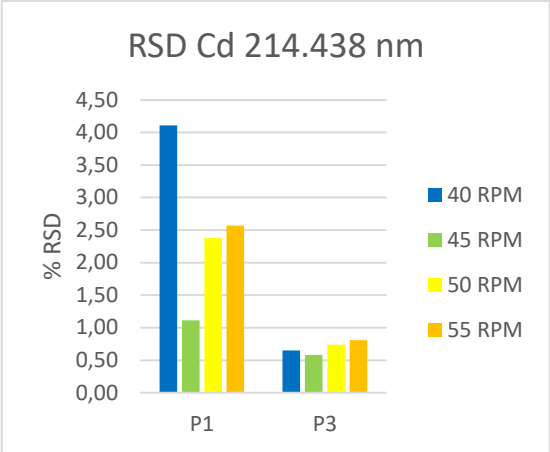
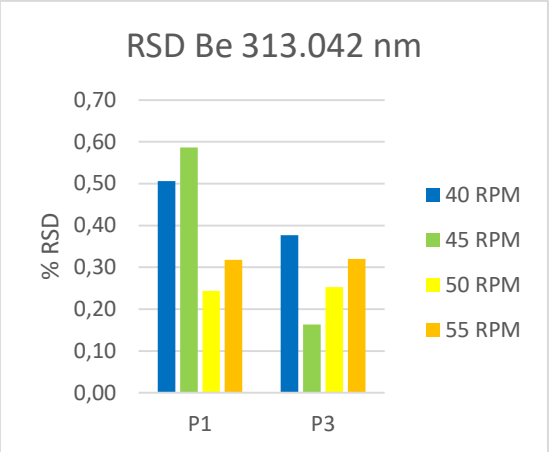


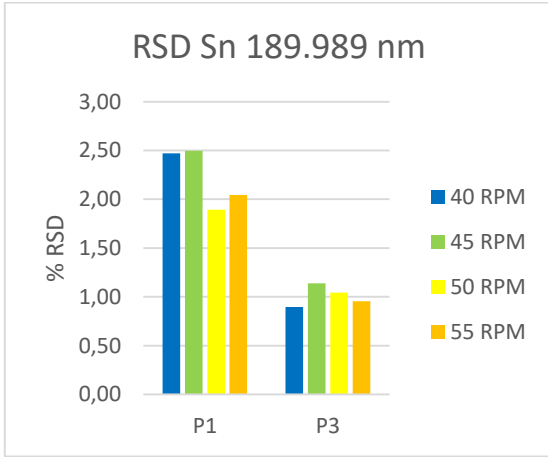
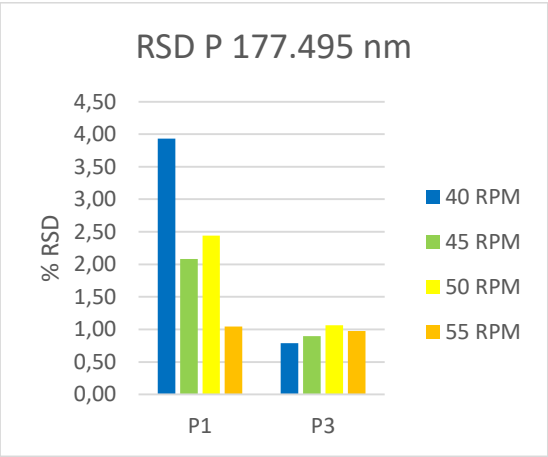
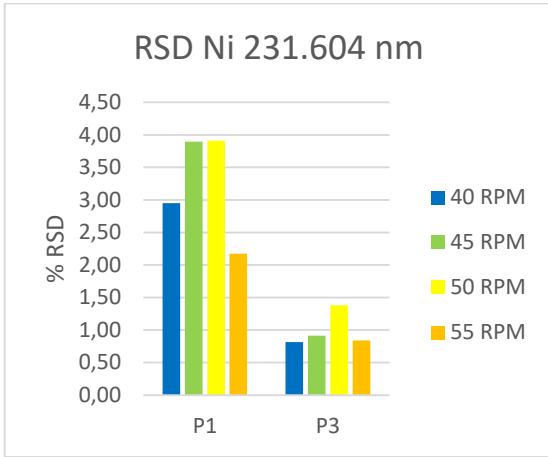
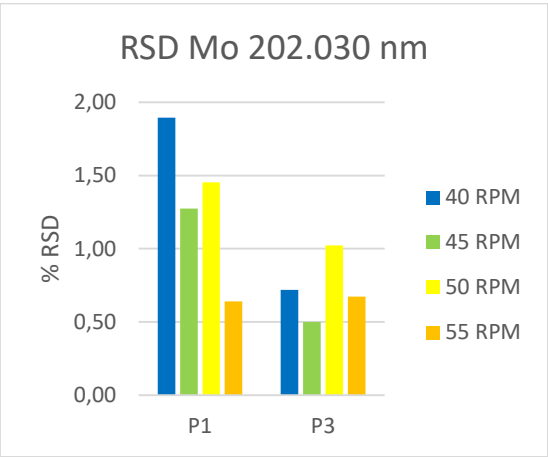
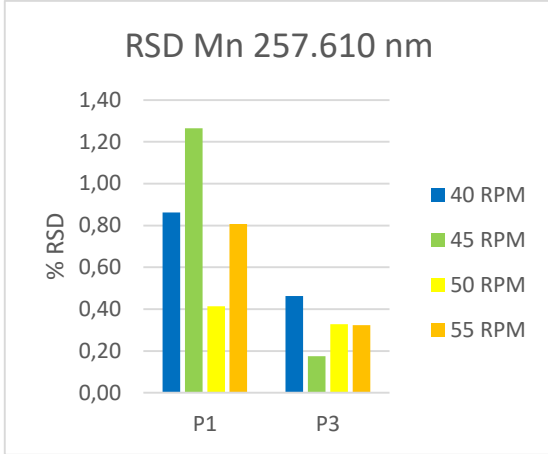
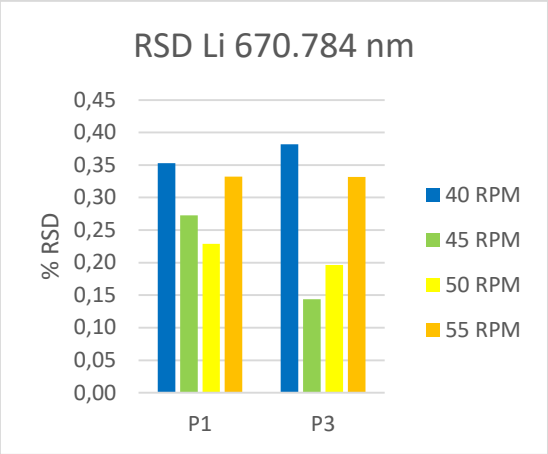


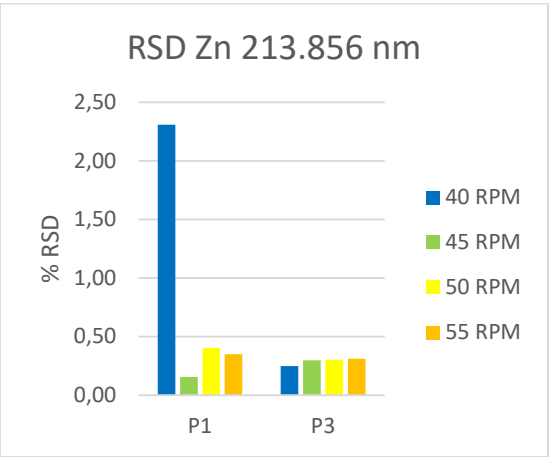
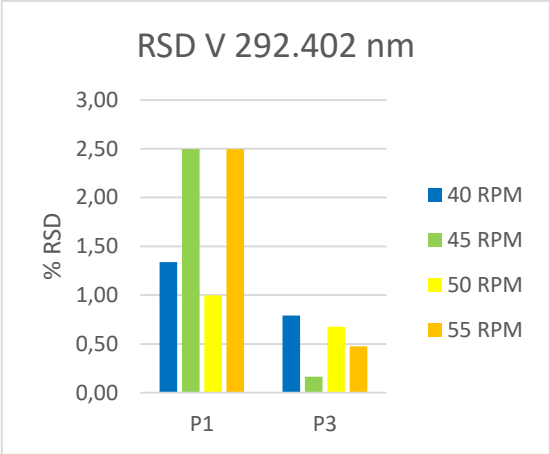
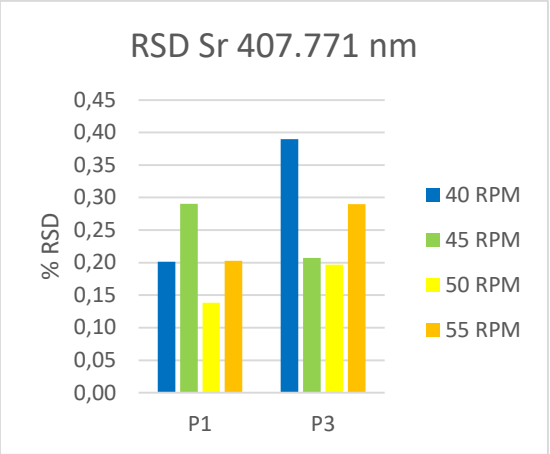
Variação de RSD





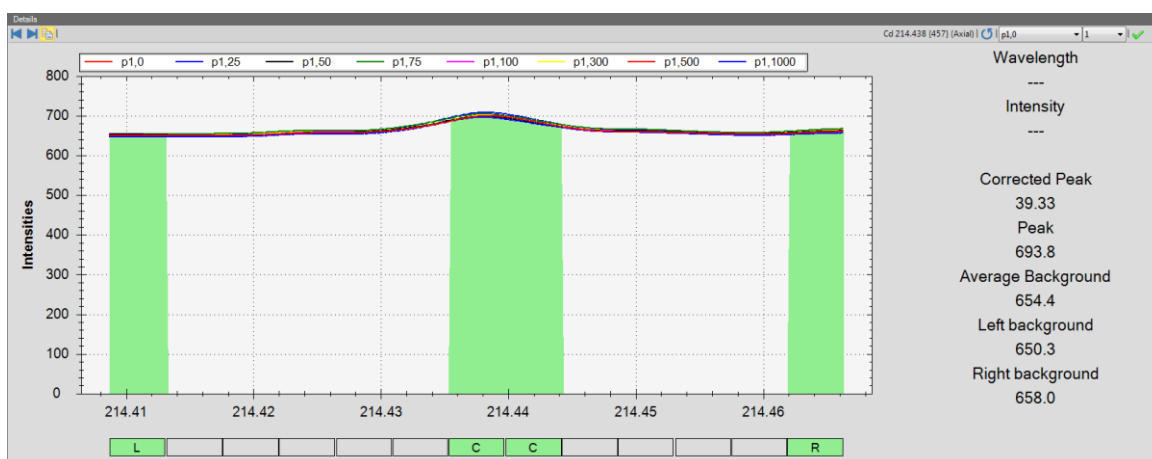
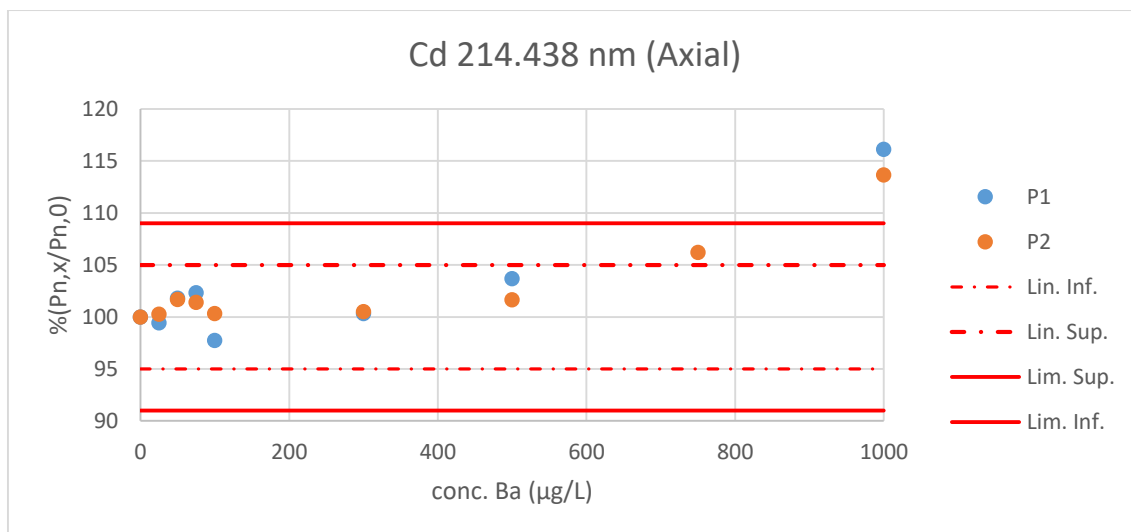




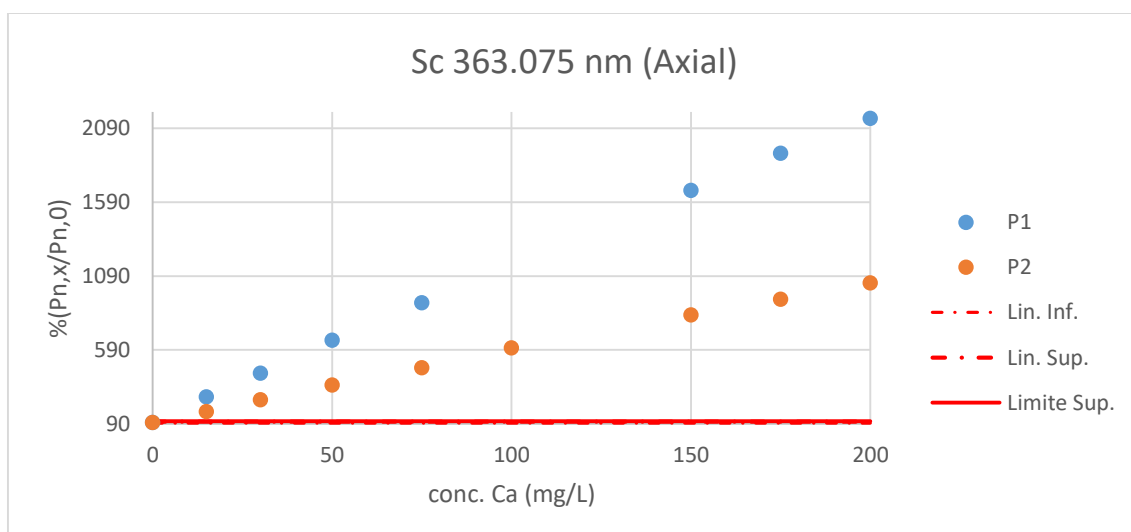


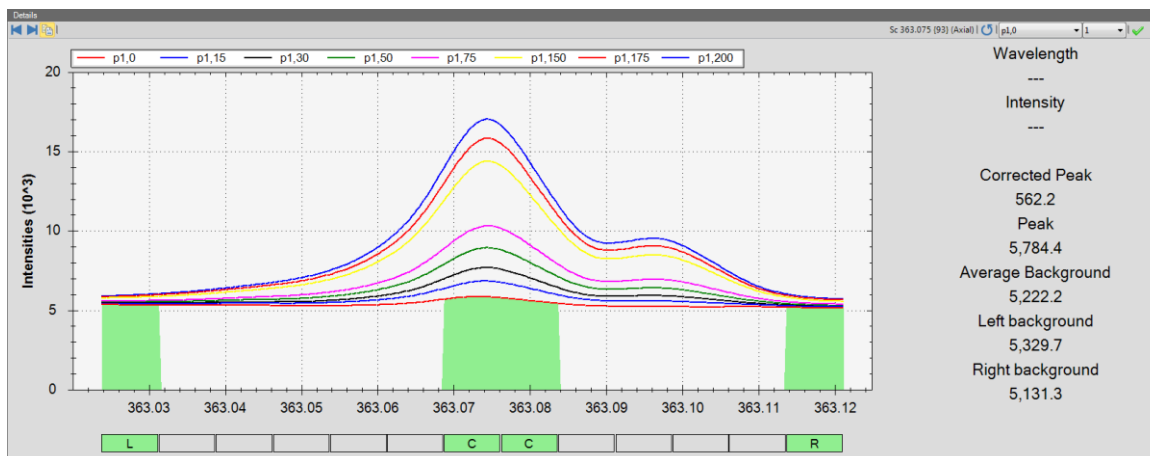
Anexo IV – Interferências espectrais

Bário (1000 µg/L)

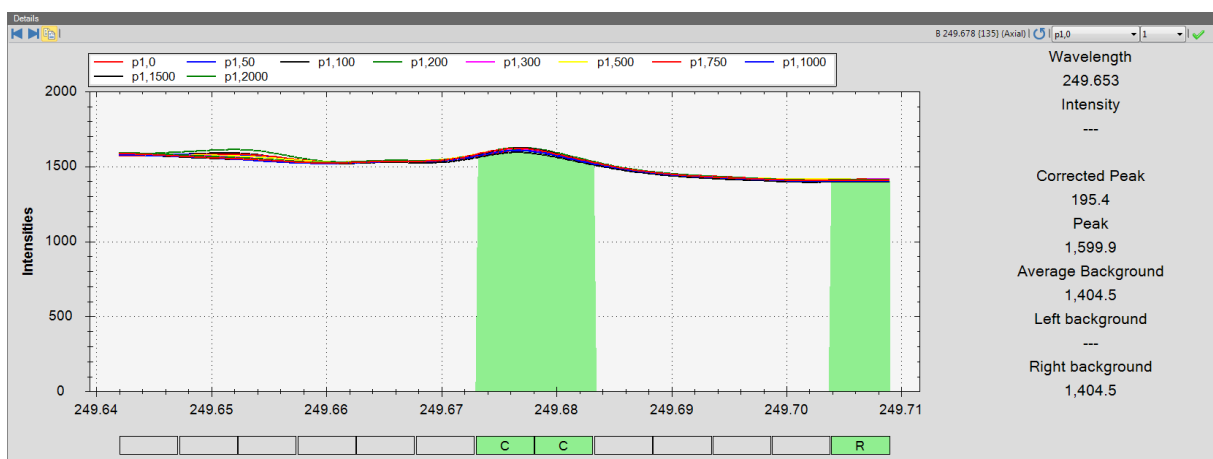
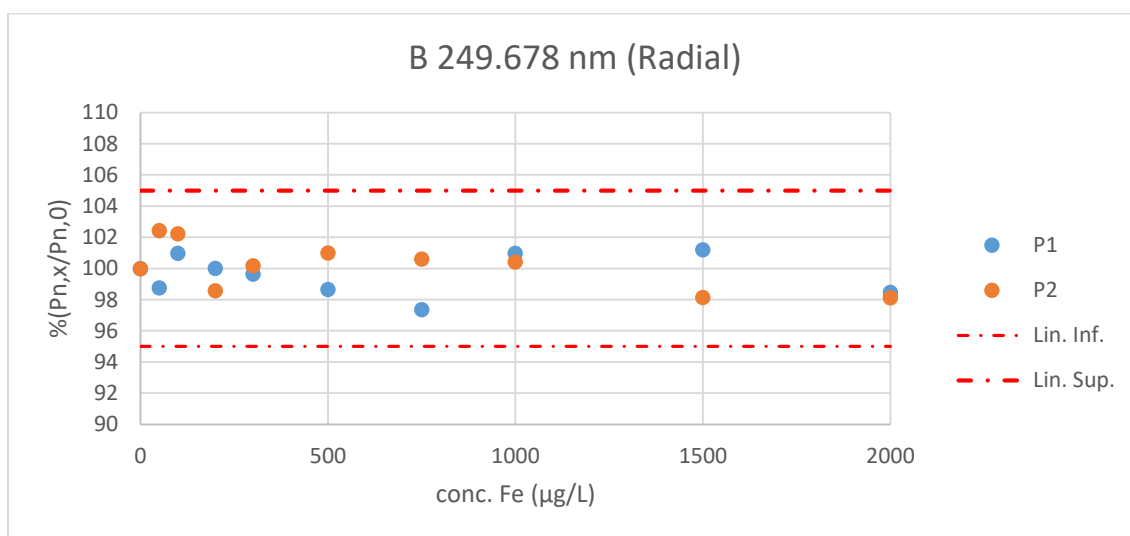


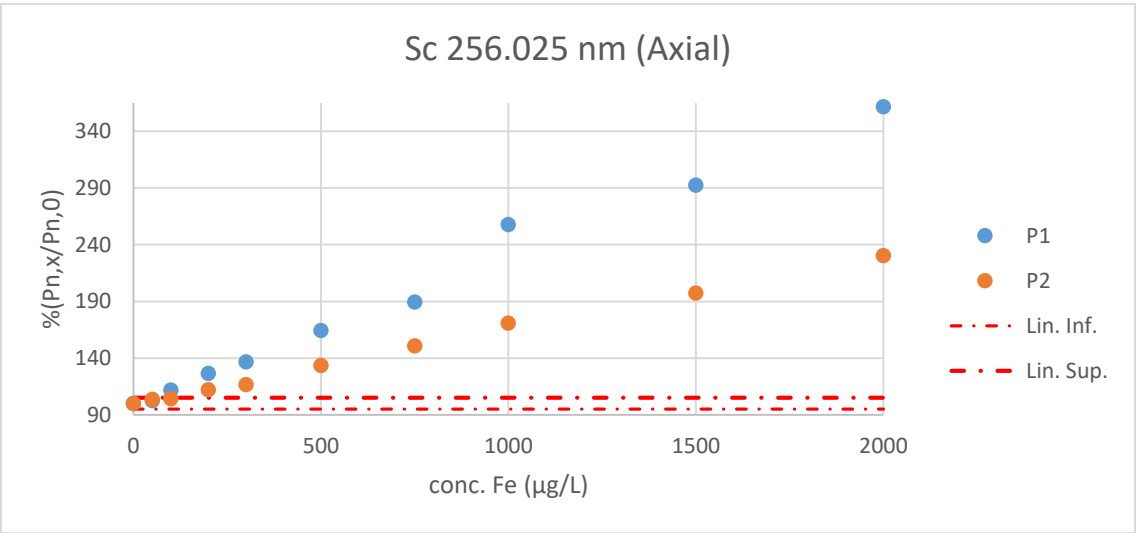
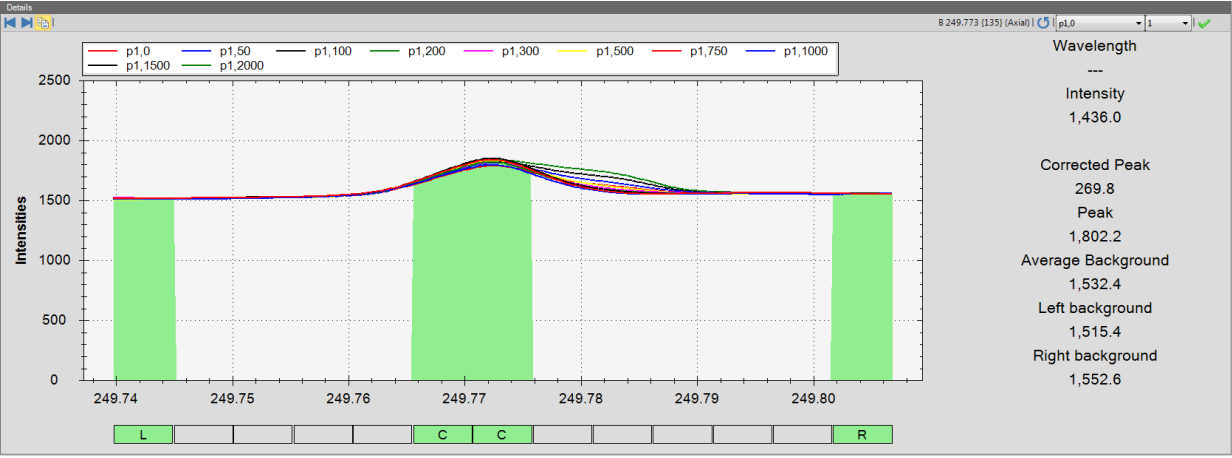
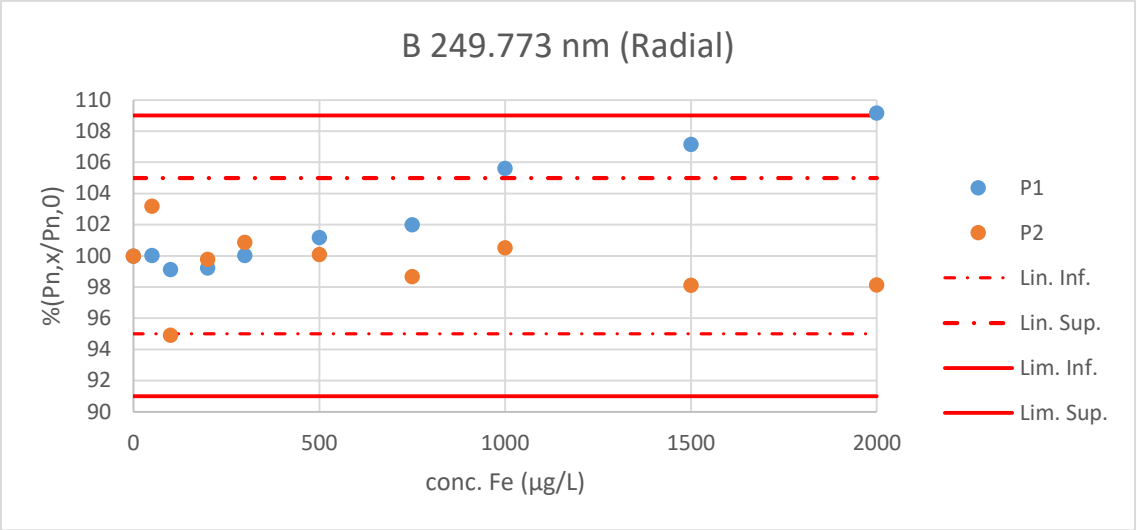
Cálcio (200 mg/L)

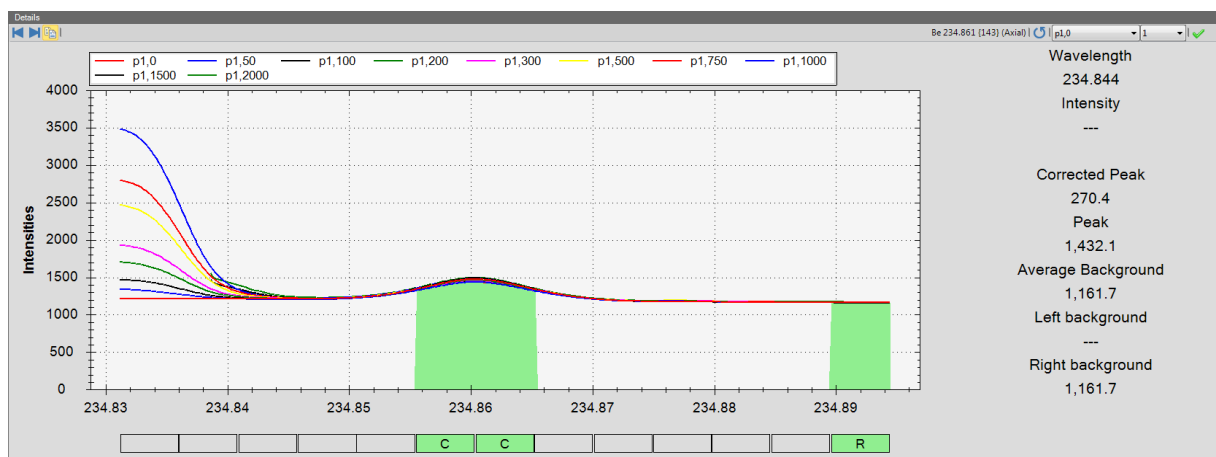
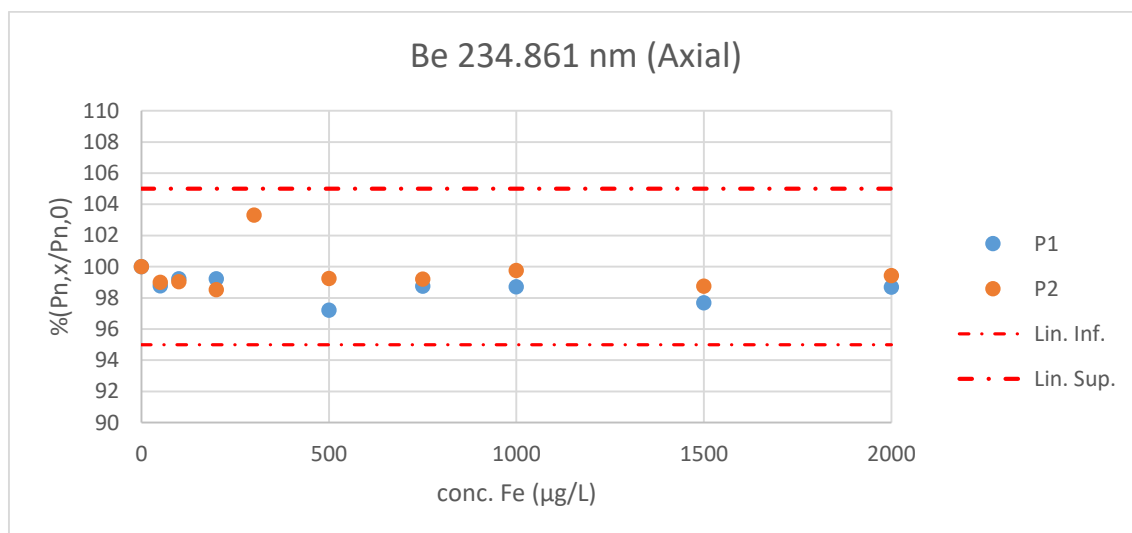
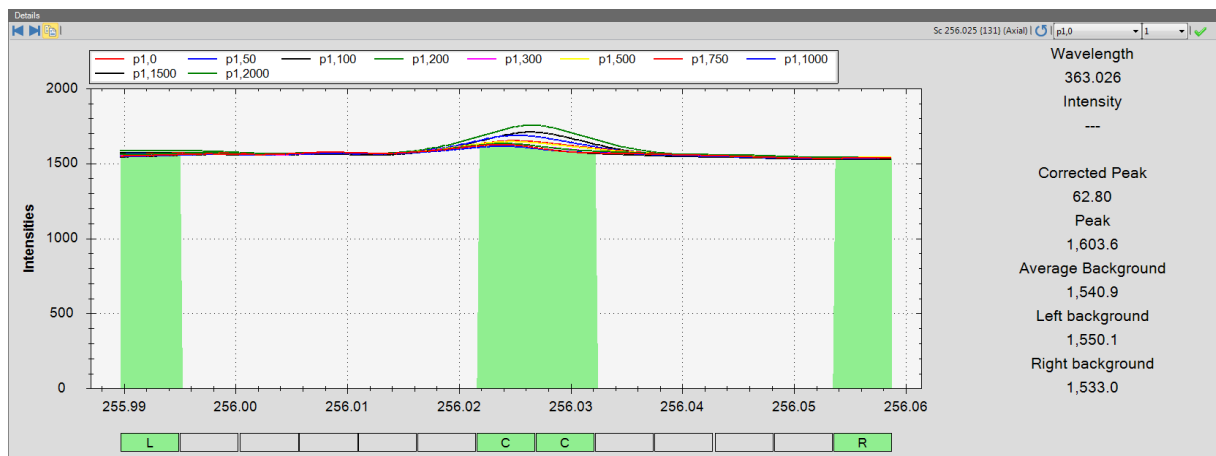




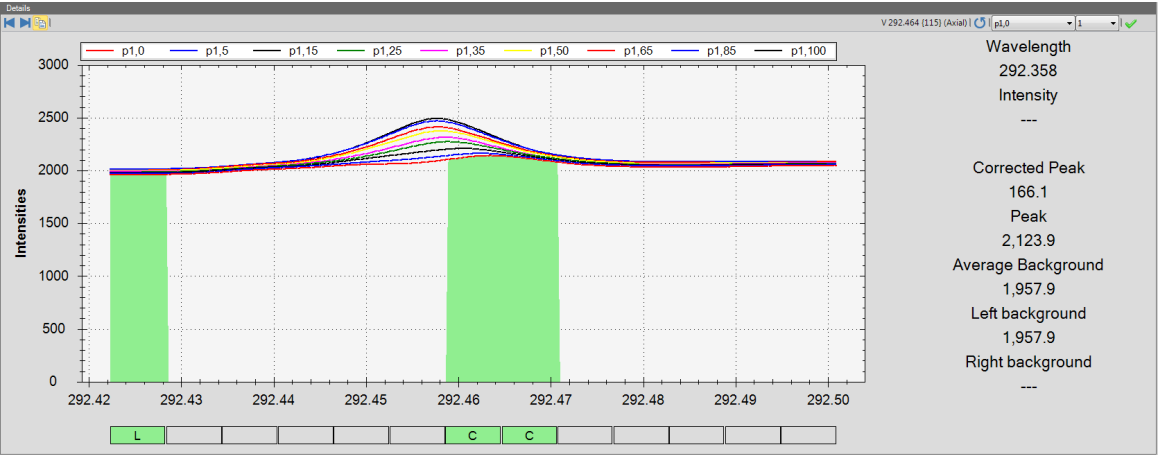
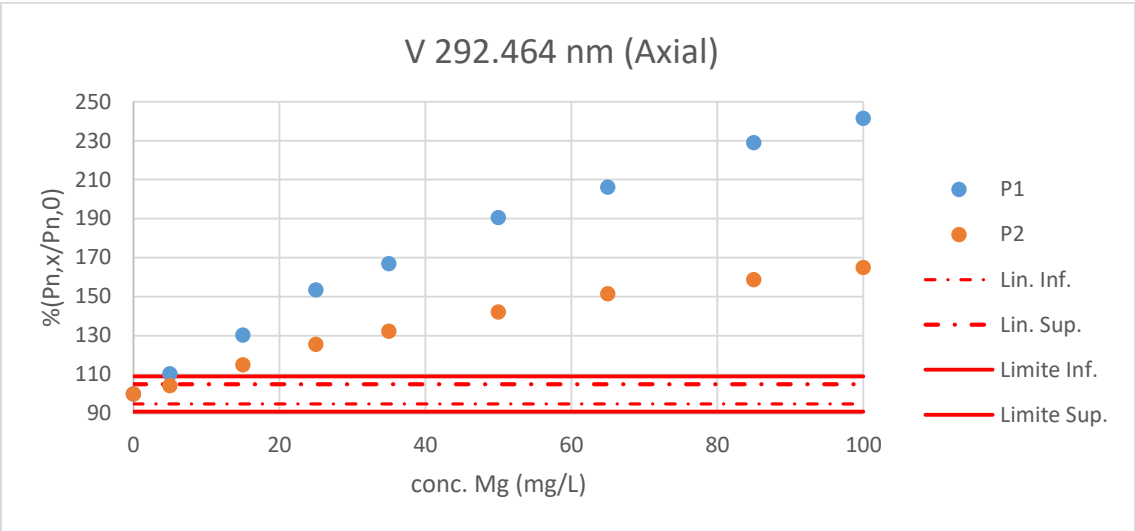
Ferro (2000 µg/L)



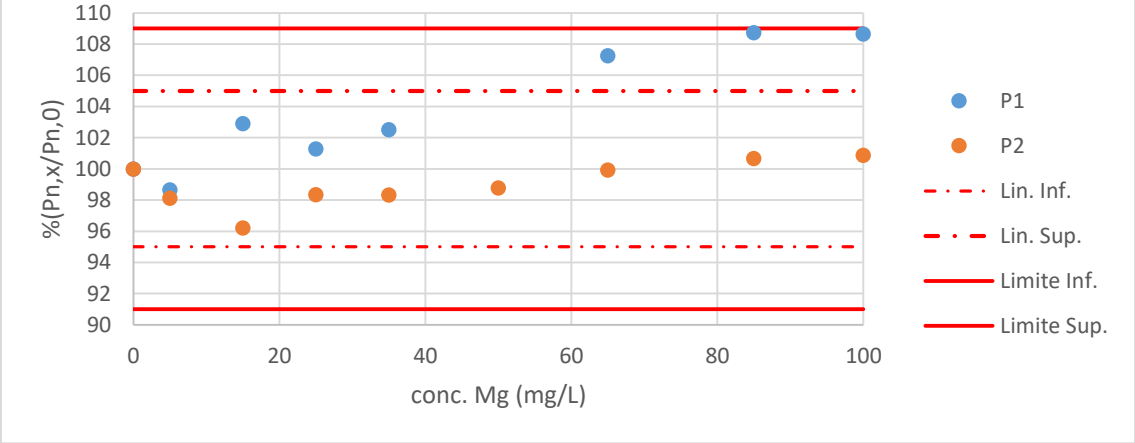


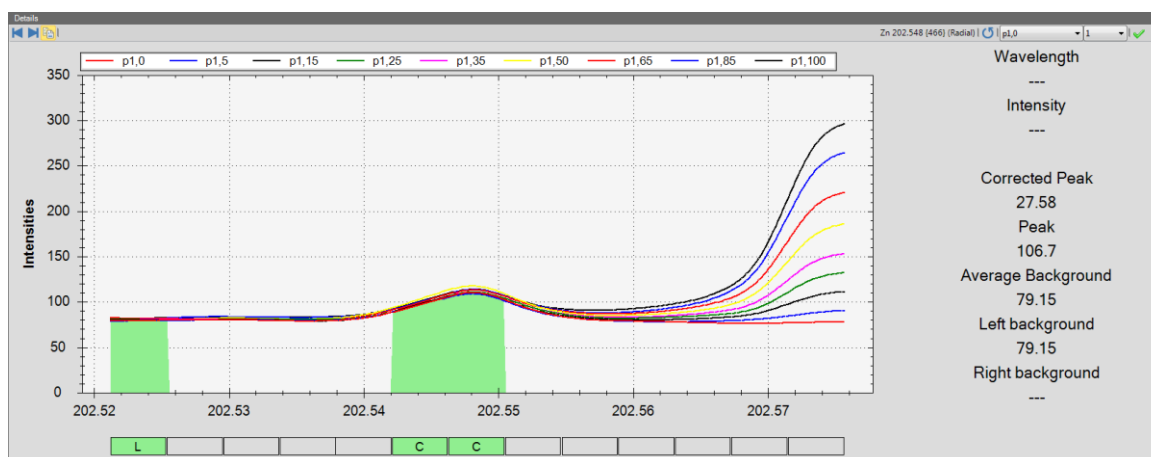


Magnésio (100 mg/L)

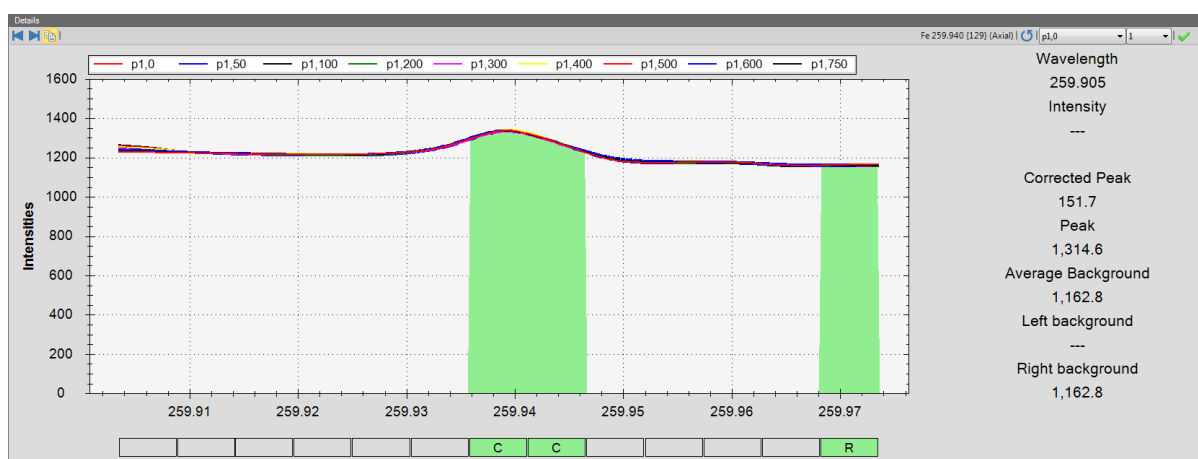
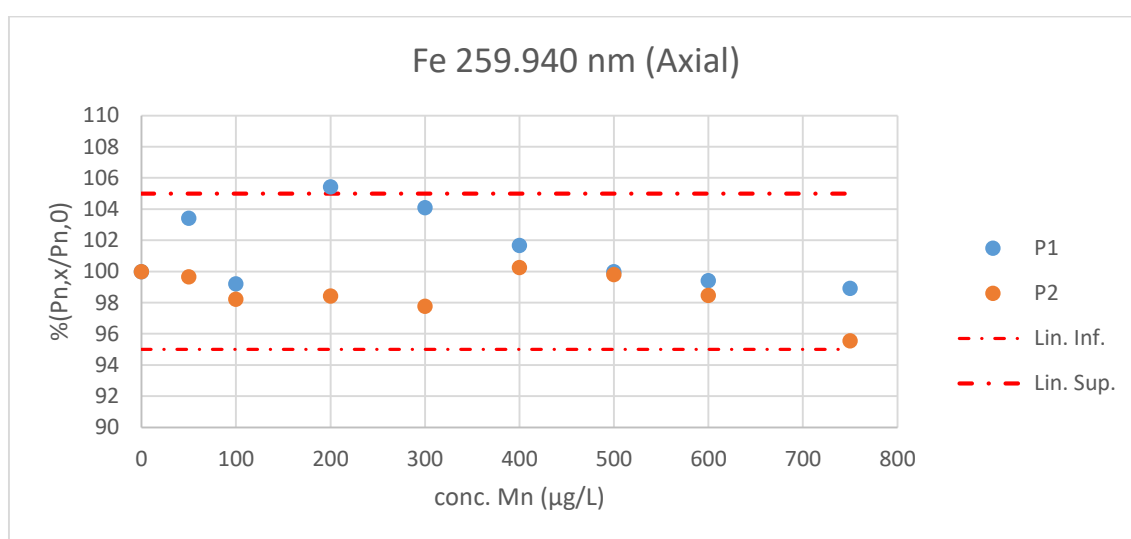


Zn 202.548 nm (Radial)

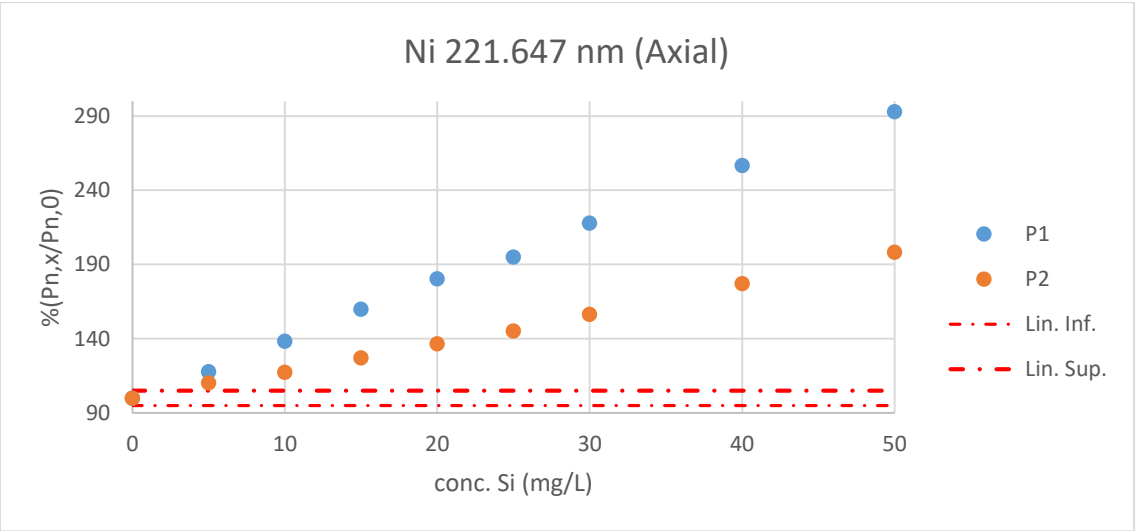
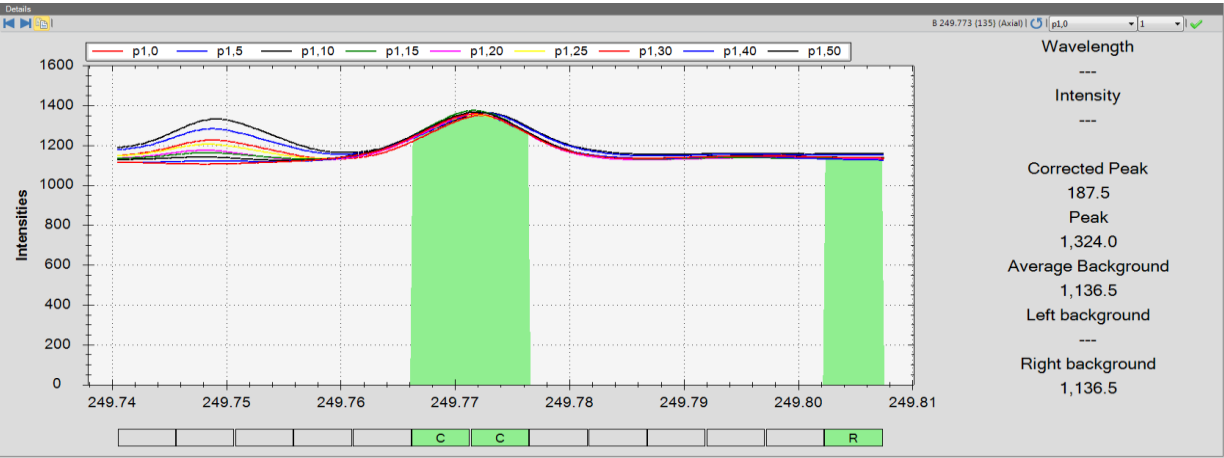
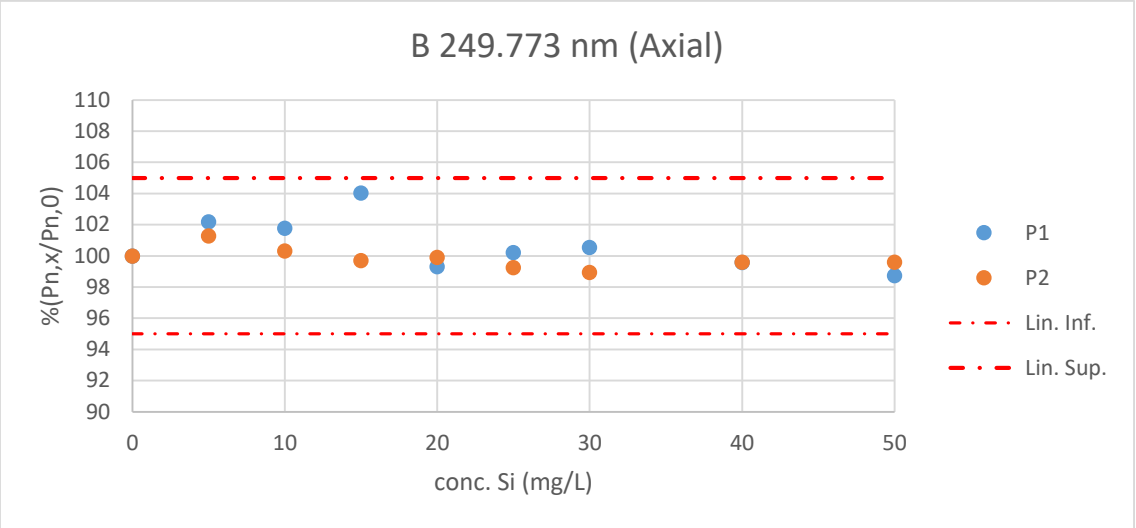


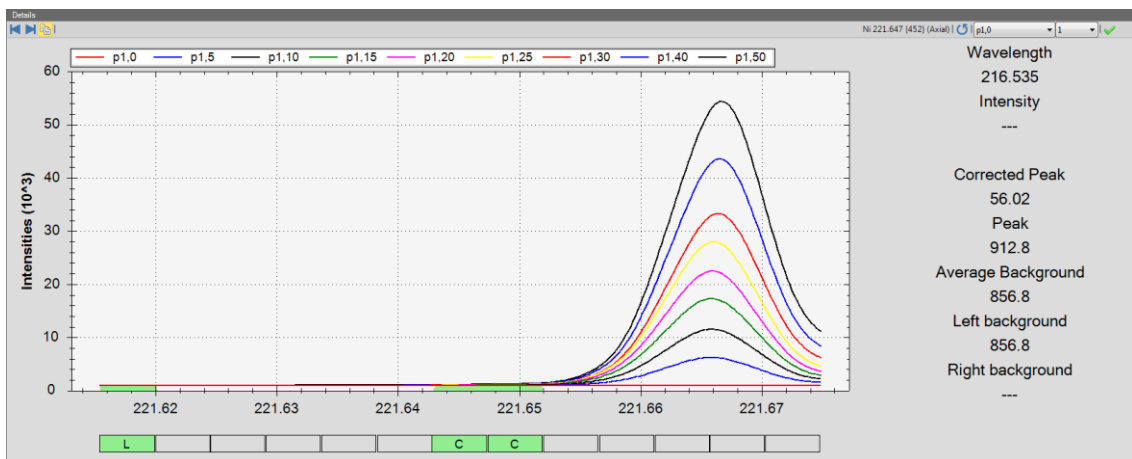


Manganês (750 µg/L)

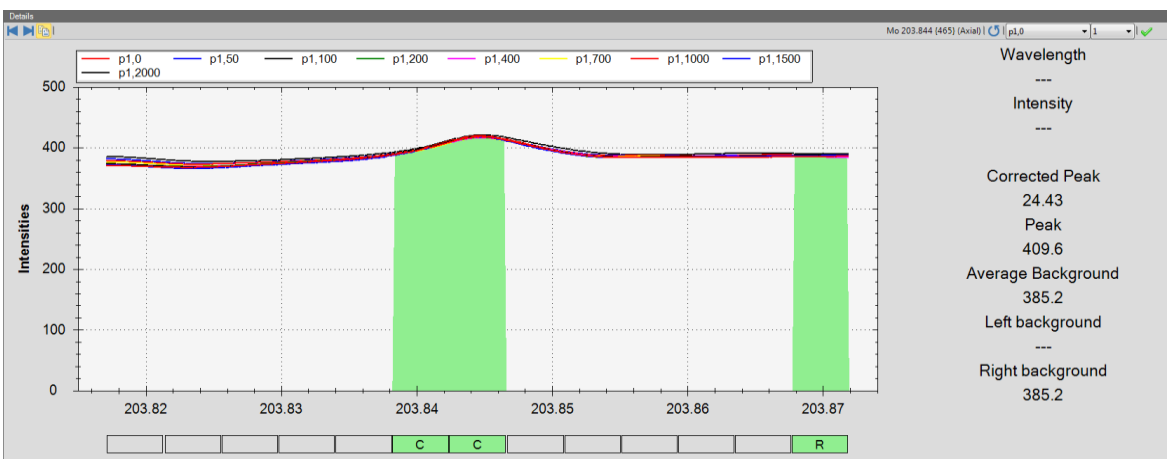
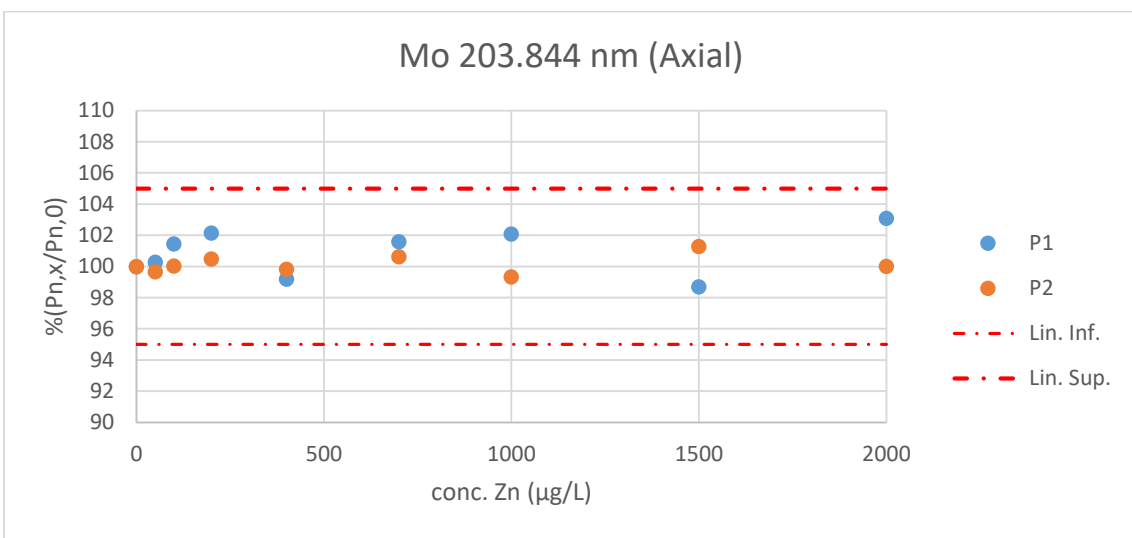


Silício (50 mg/L)



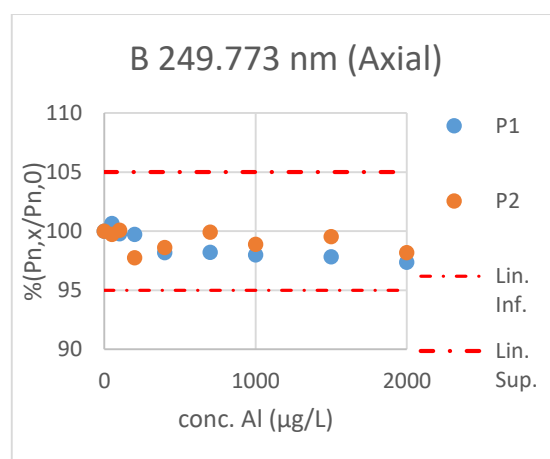
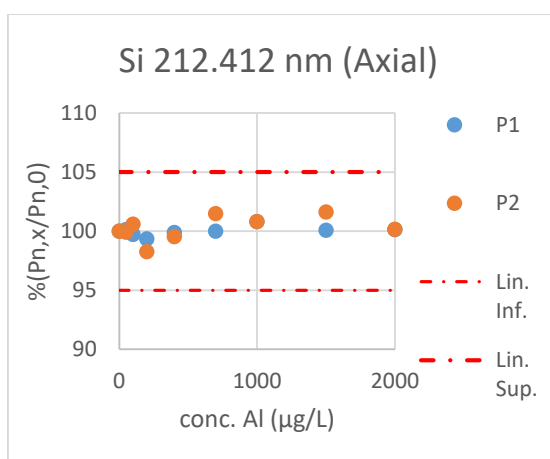
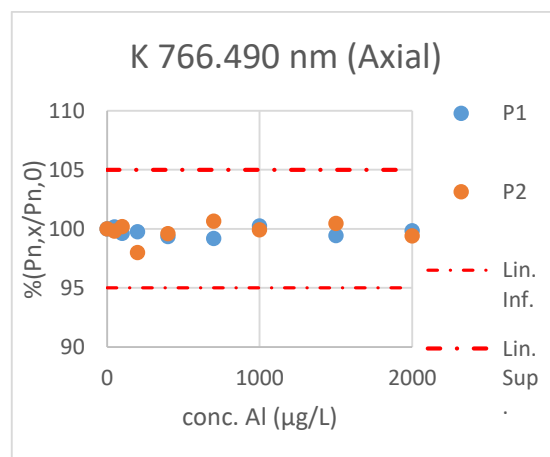
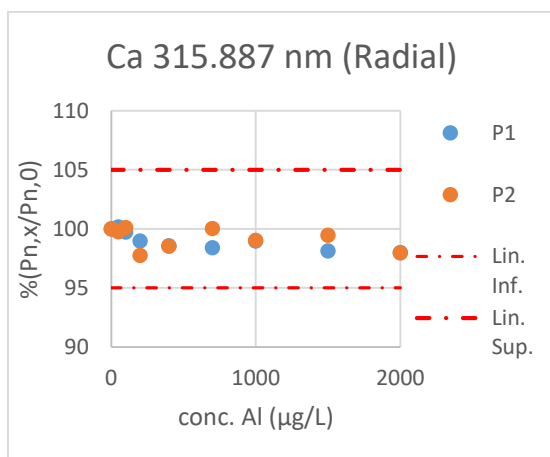
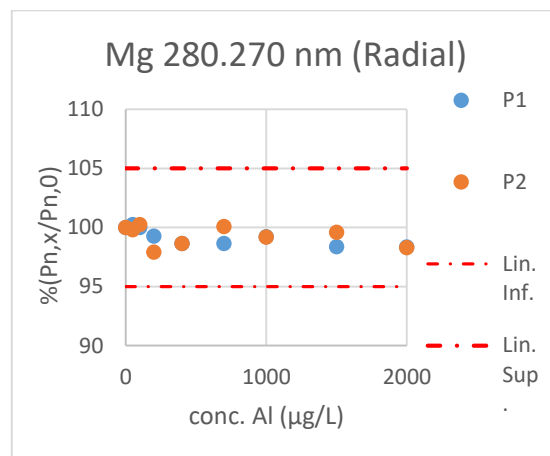
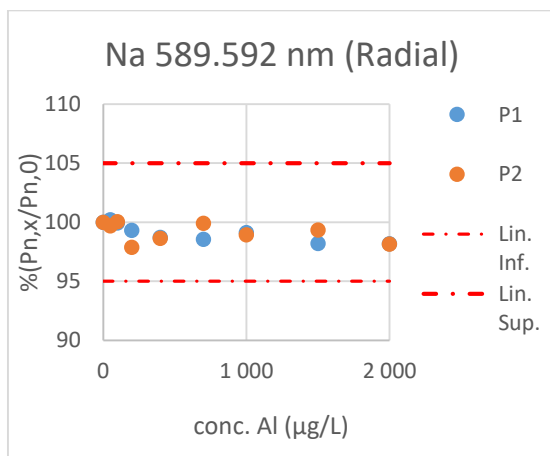


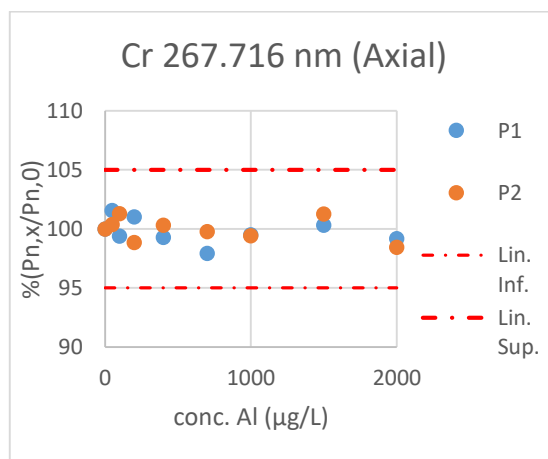
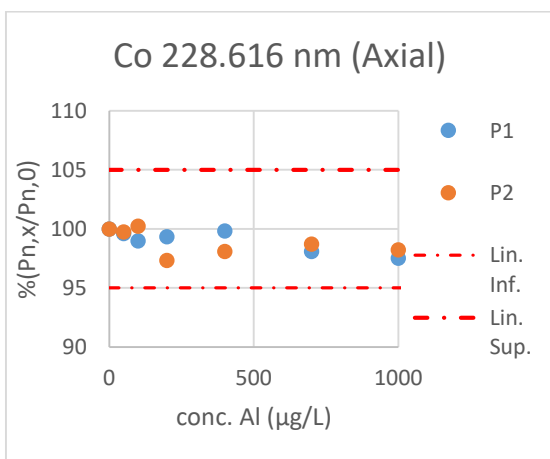
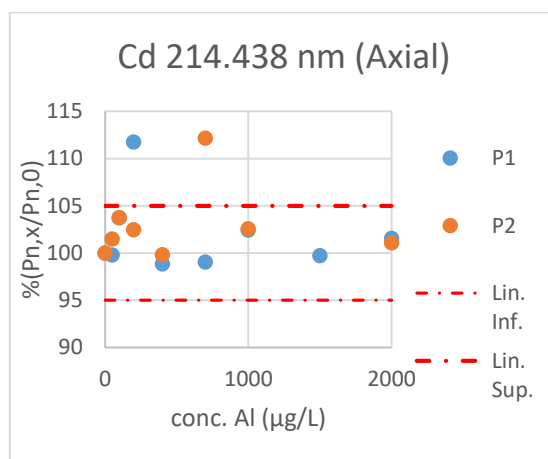
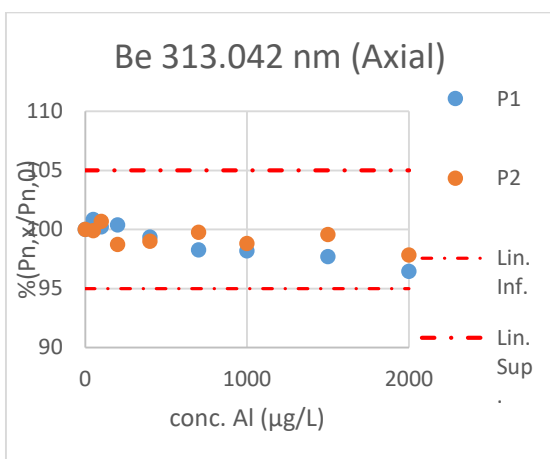
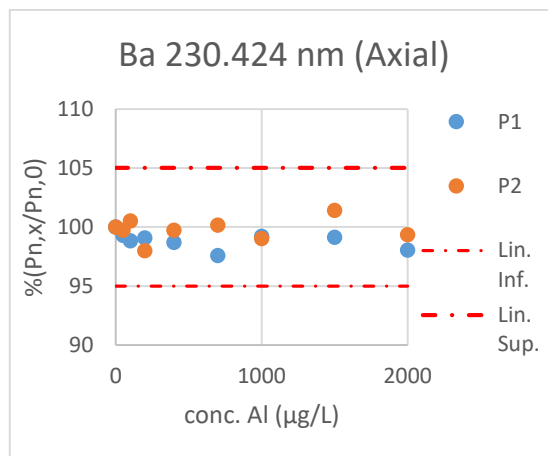
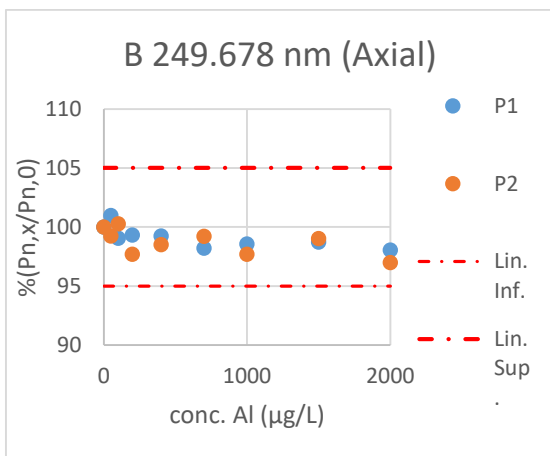
Zinco (2000 µg/L)

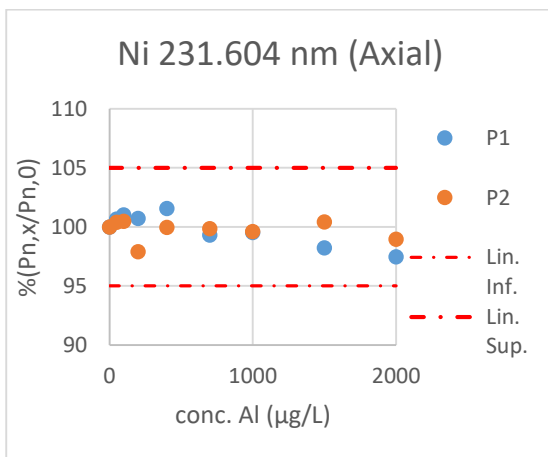
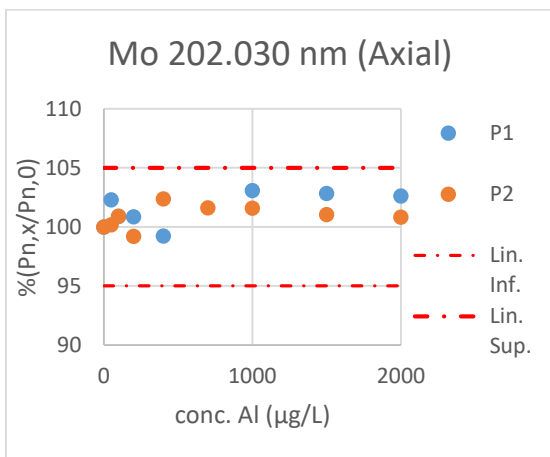
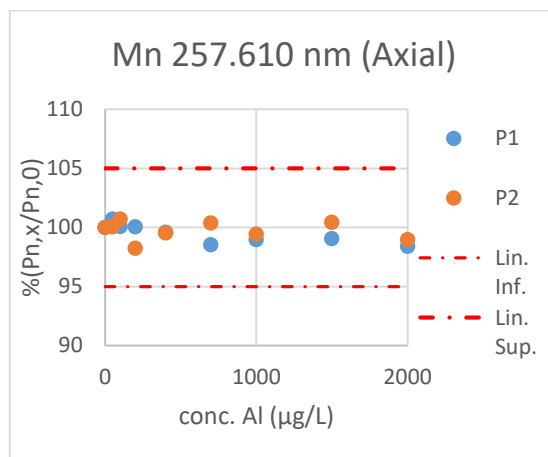
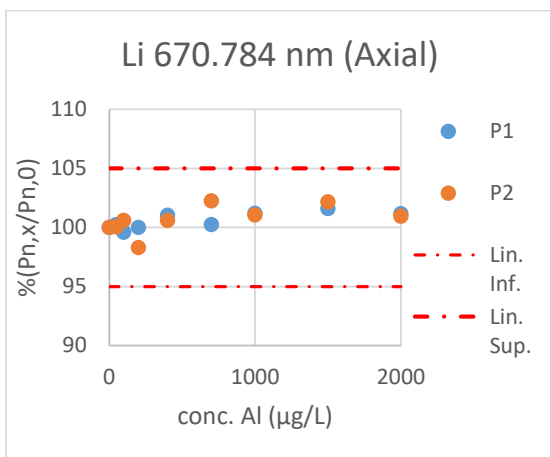
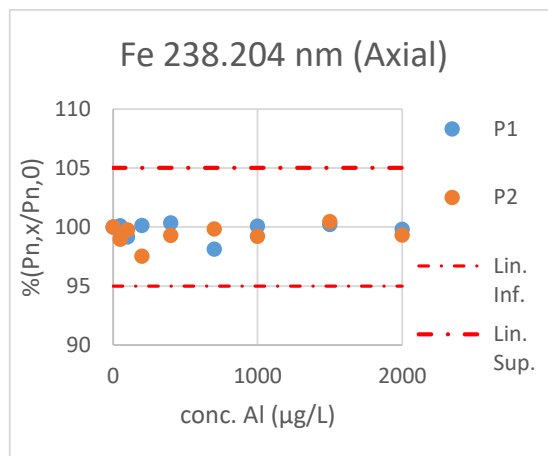
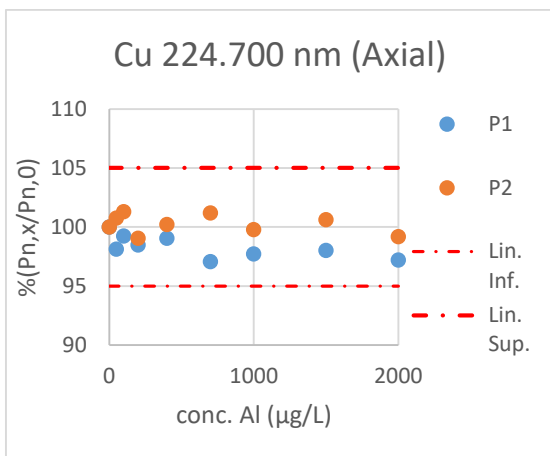


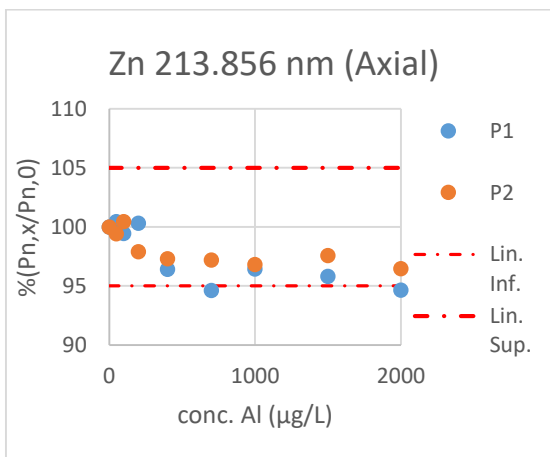
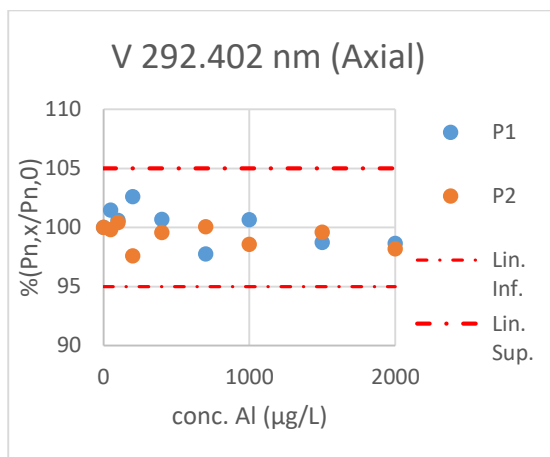
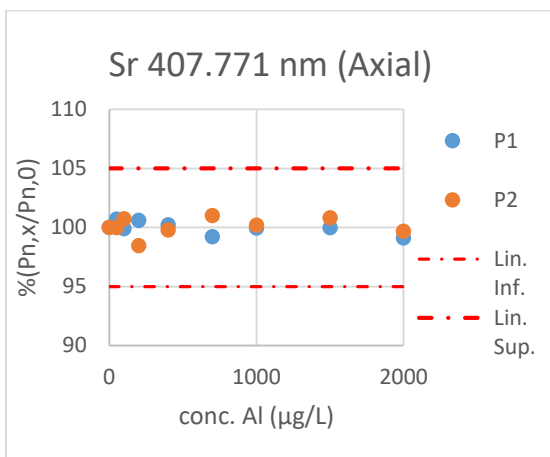
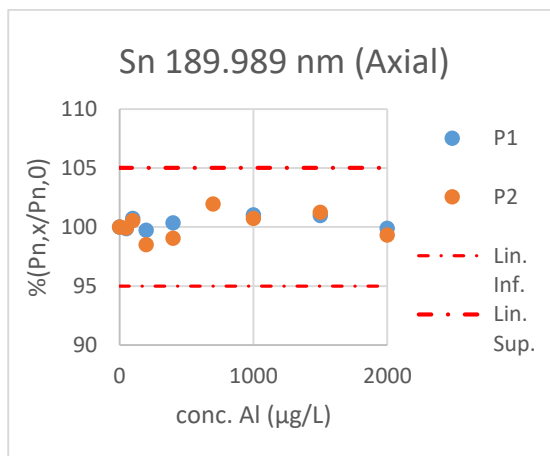
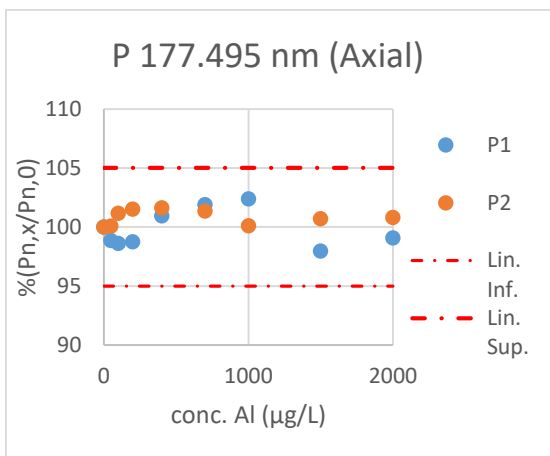
Linhas de emissão sem interferências espectrais

Alumínio (2000 µg/L)

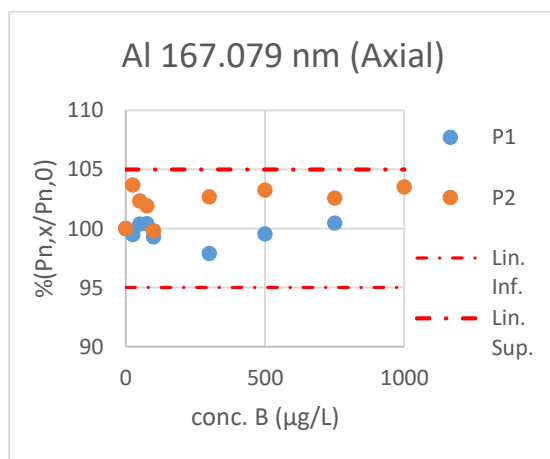
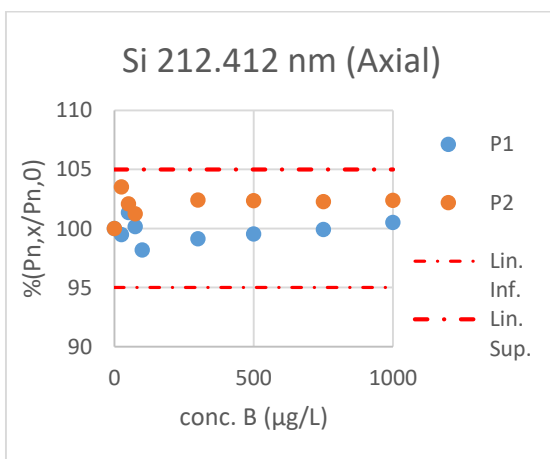
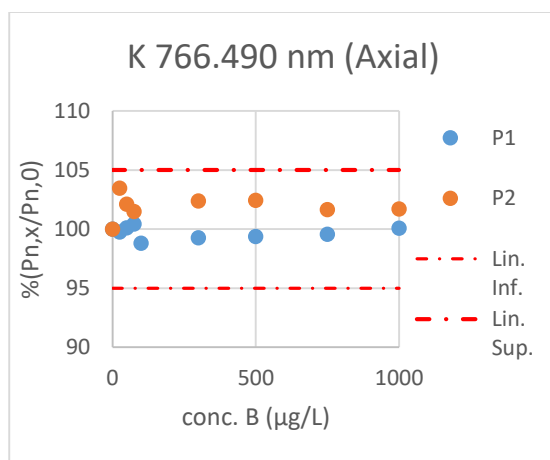
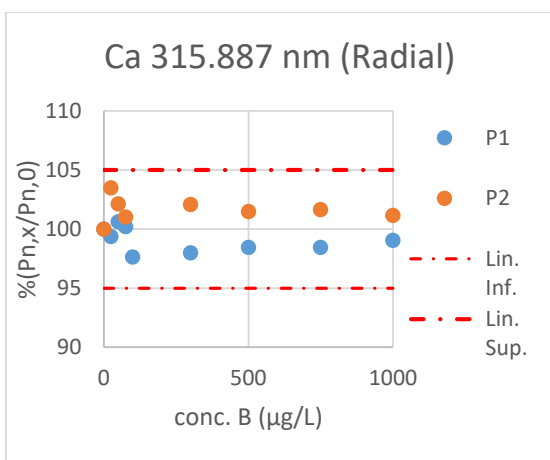
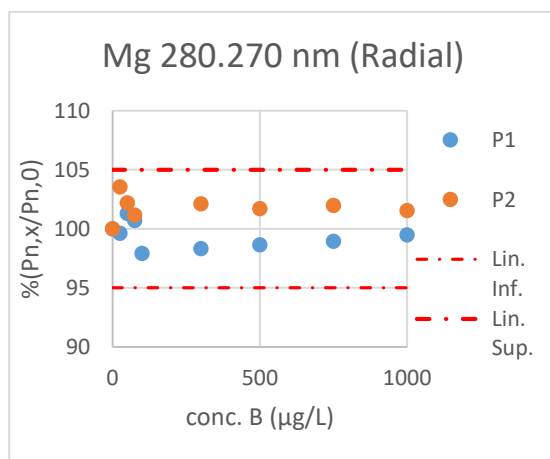
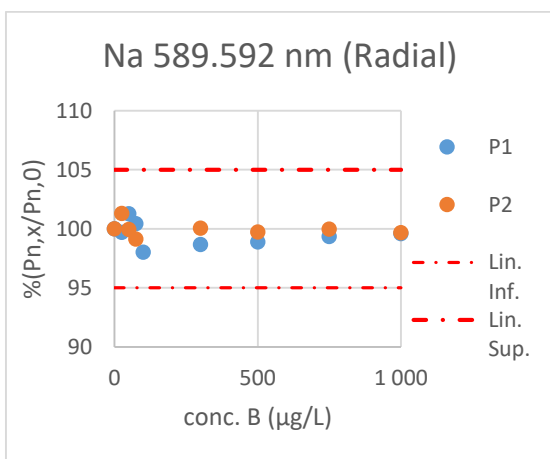


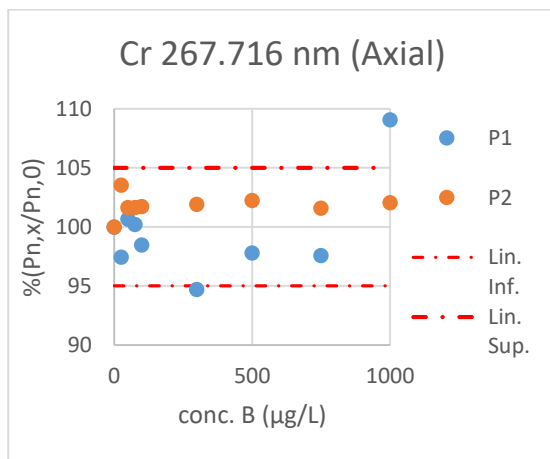
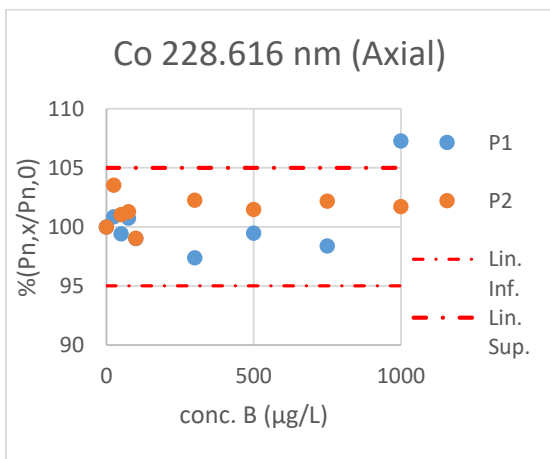
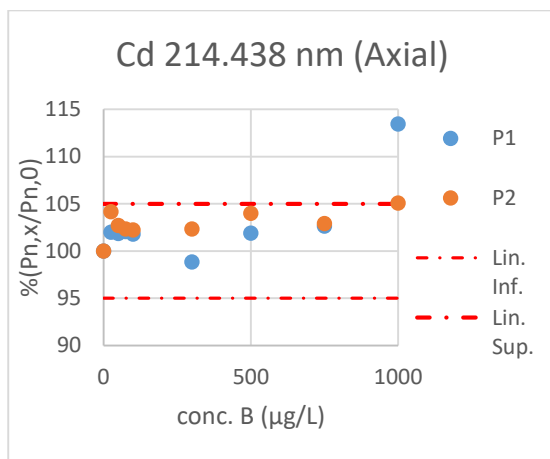
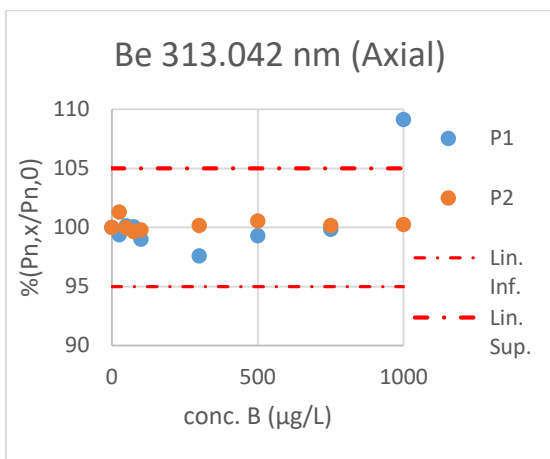
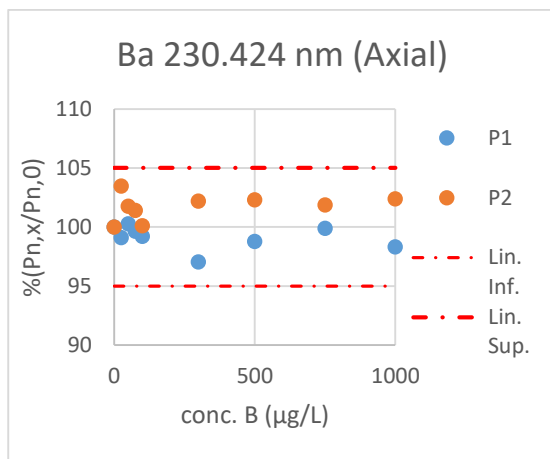
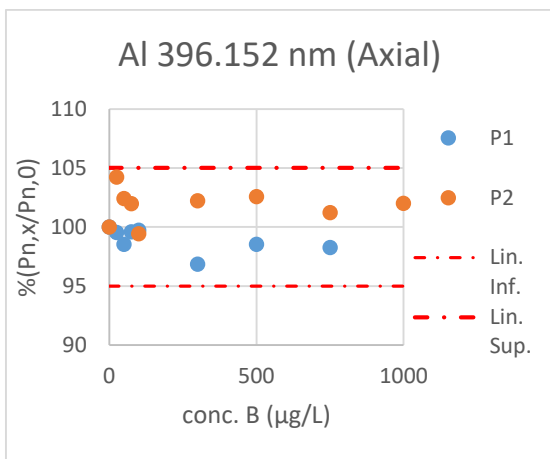


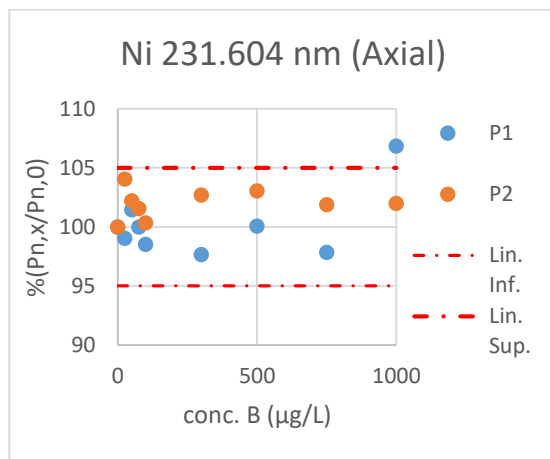
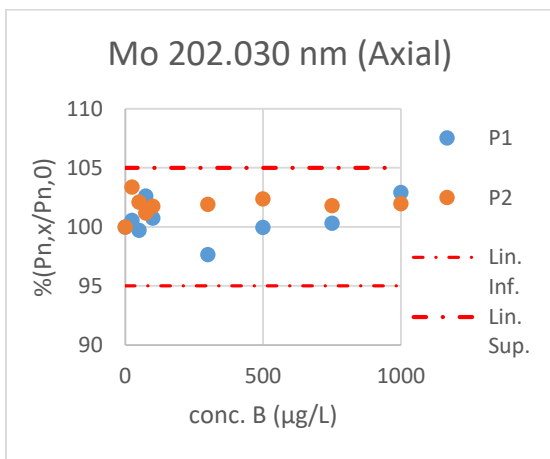
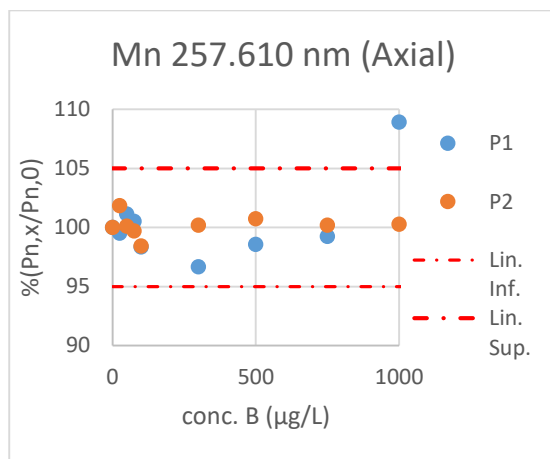
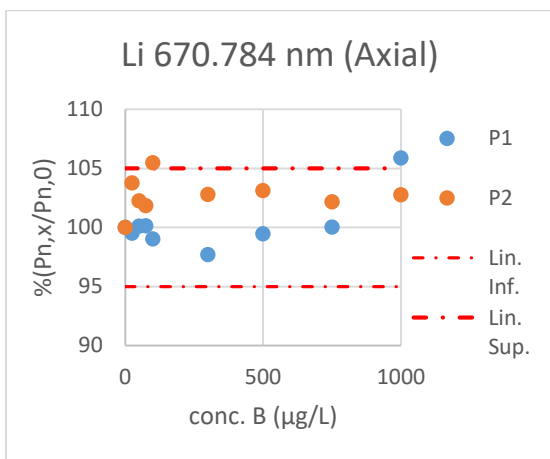
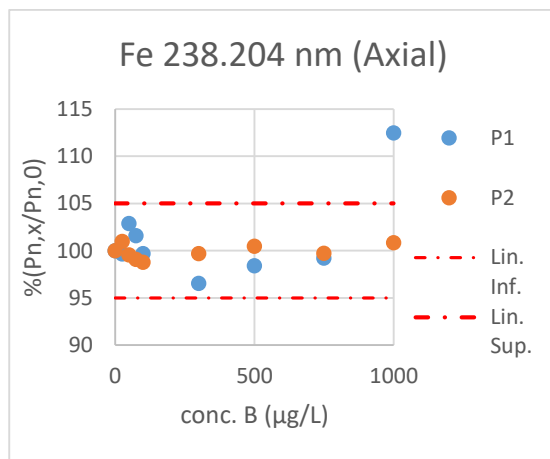
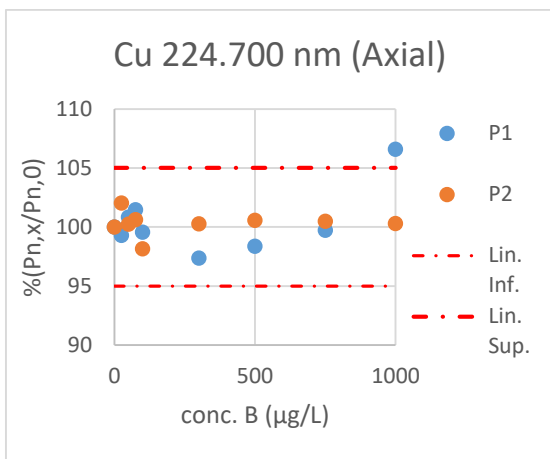


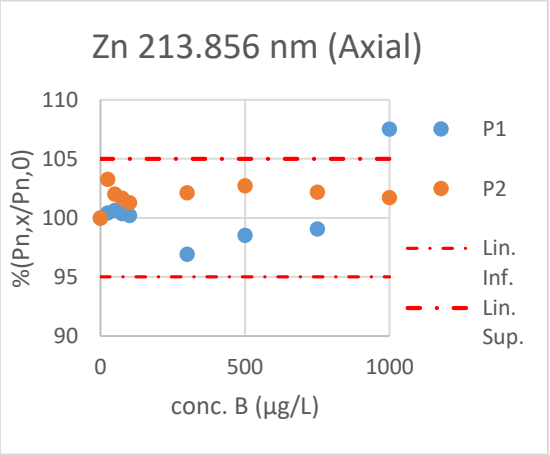
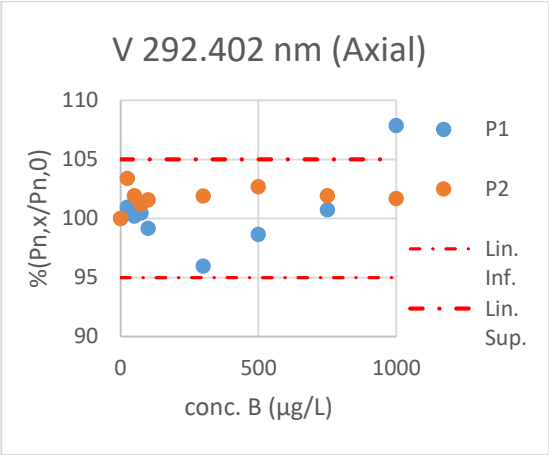
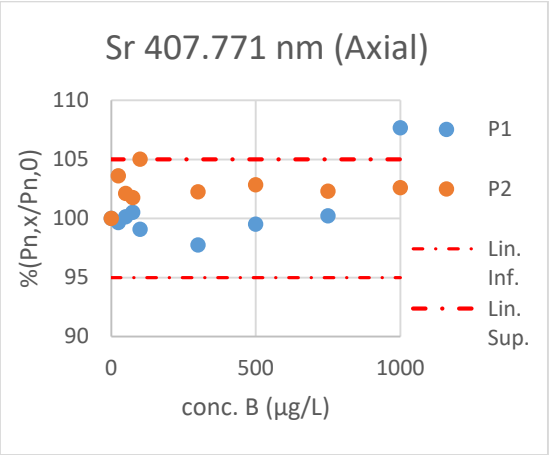
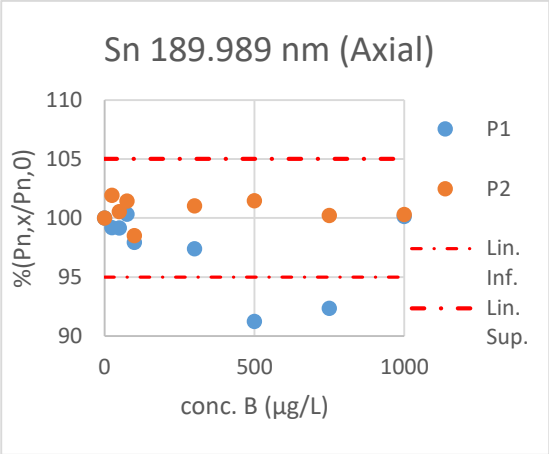
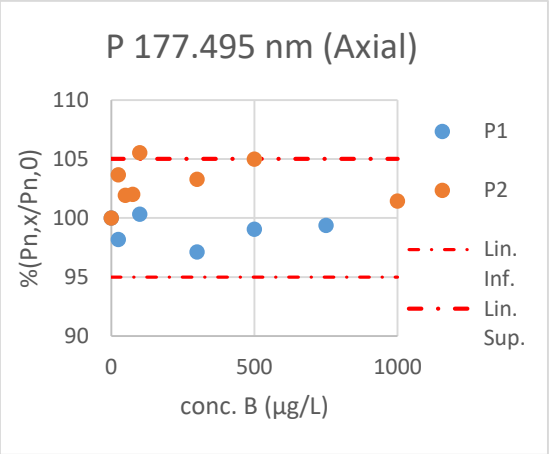


Boro (1000 µg/L)

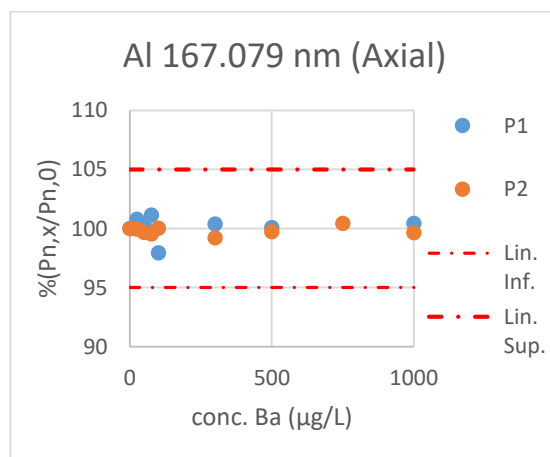
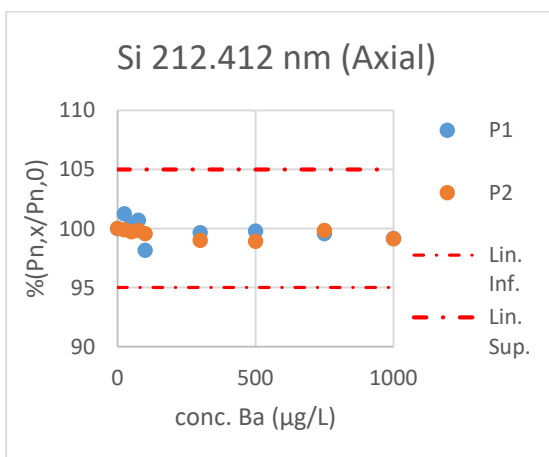
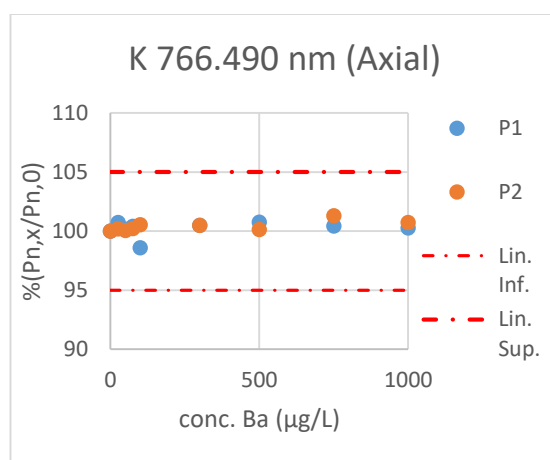
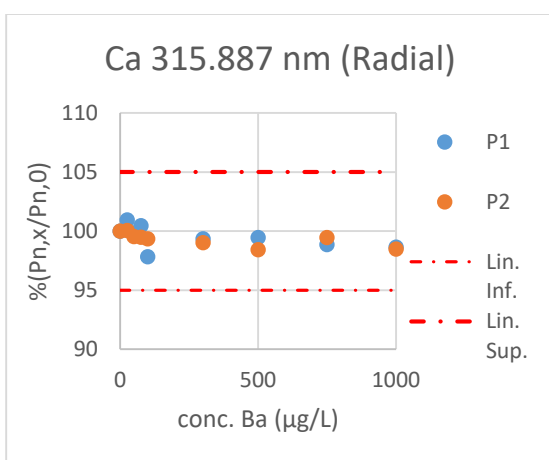
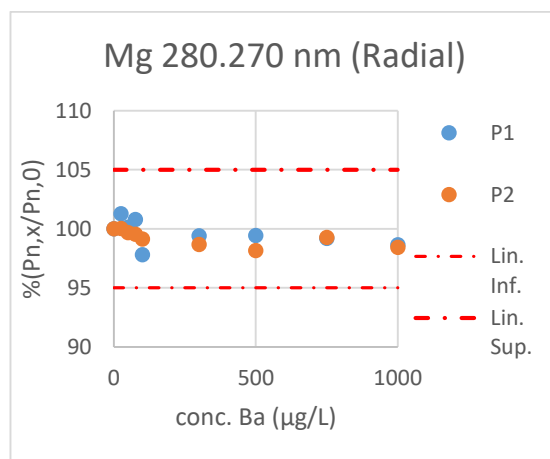
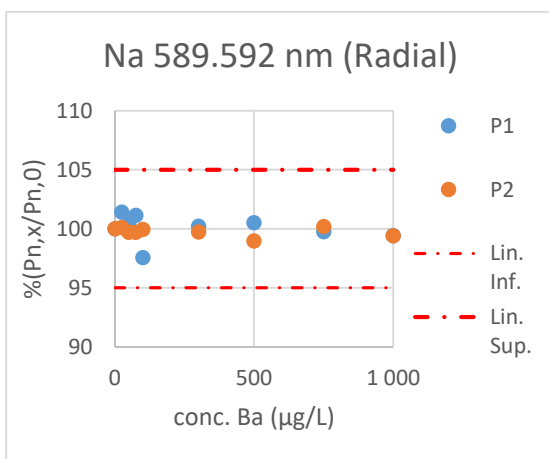


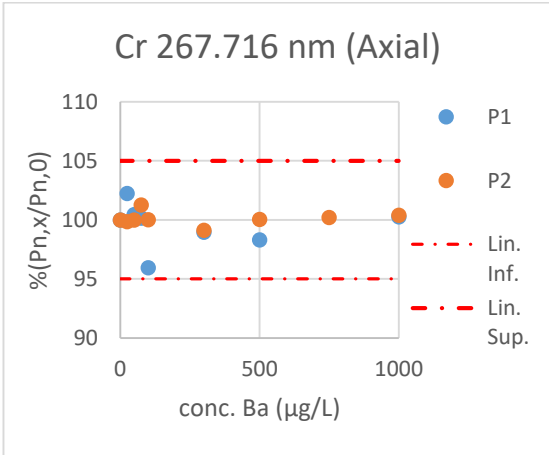
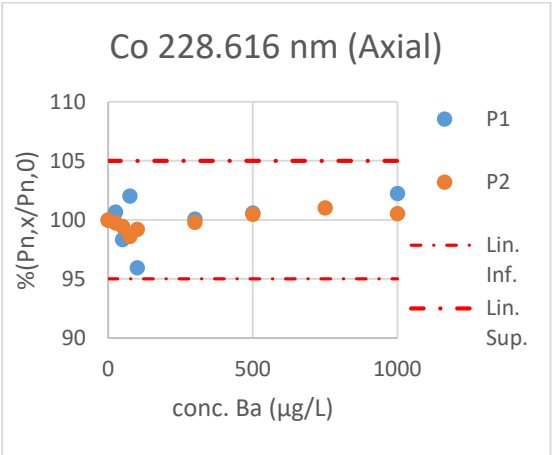
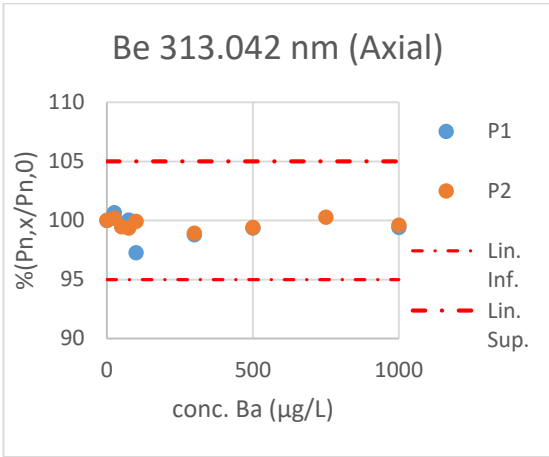
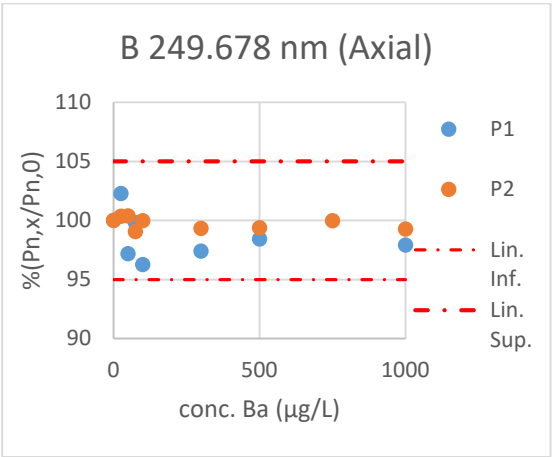
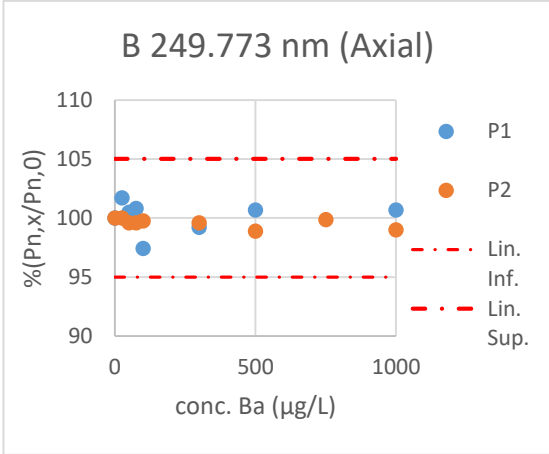
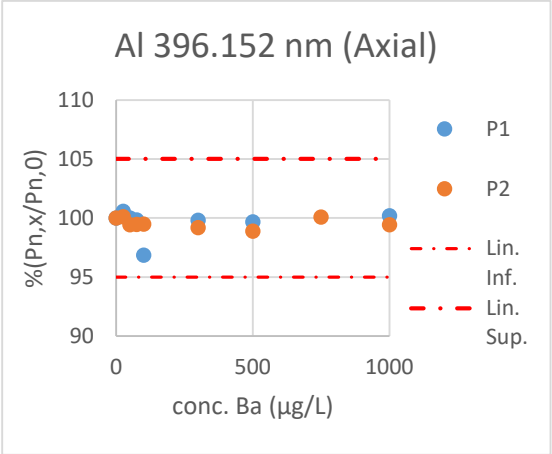


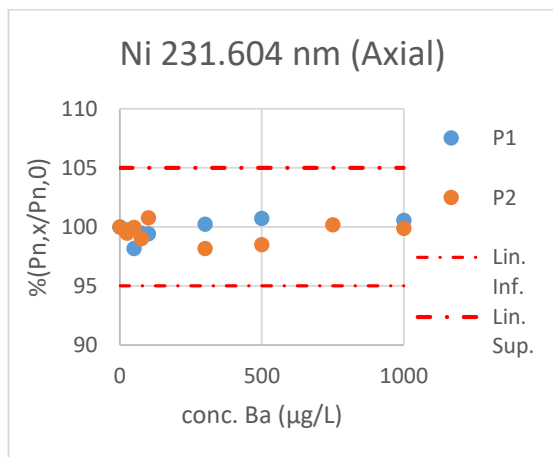
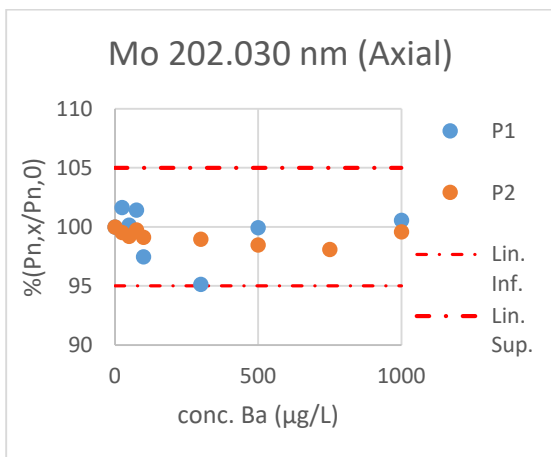
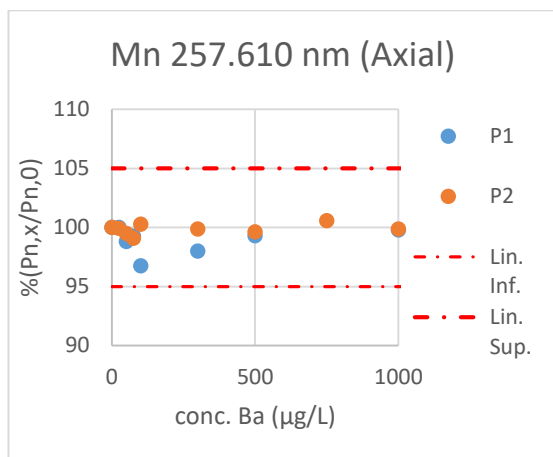
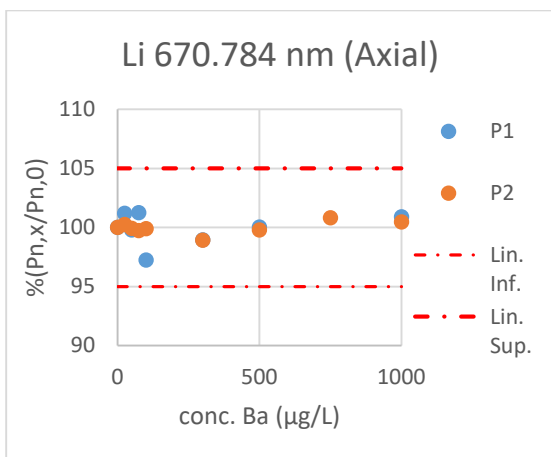
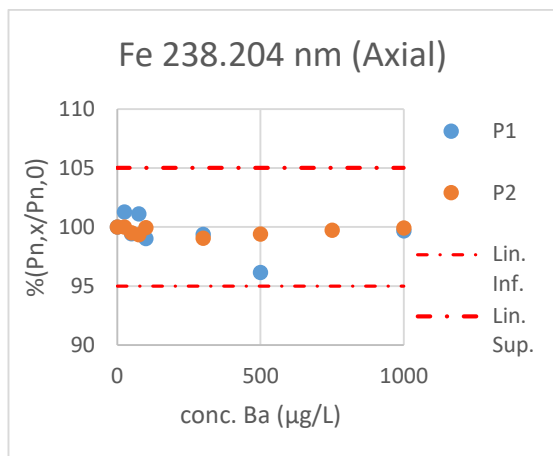
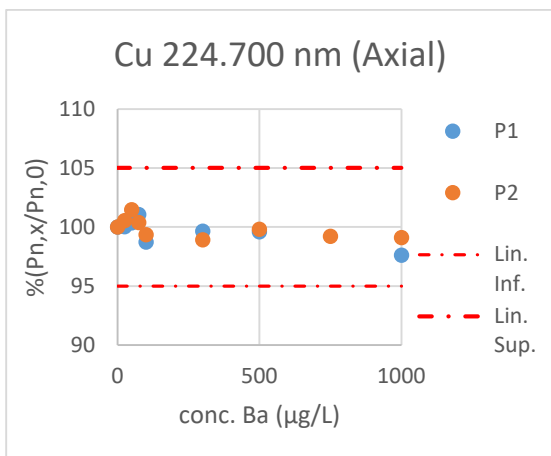


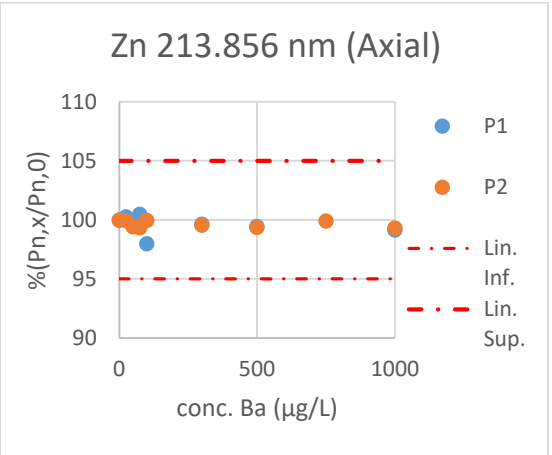
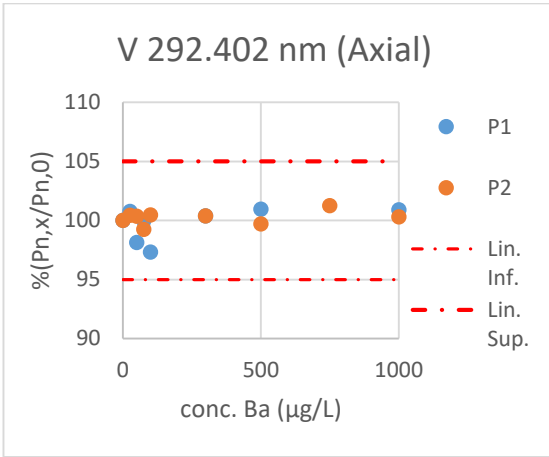
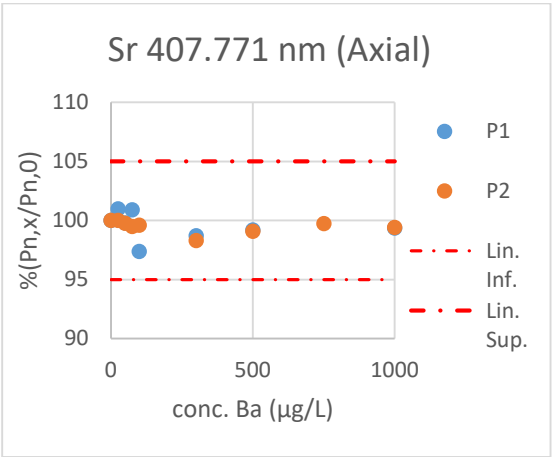
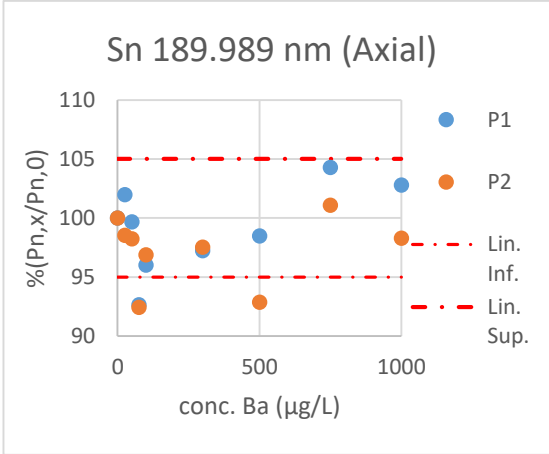
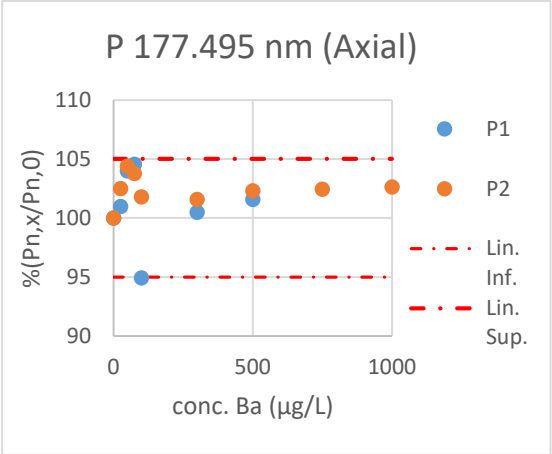


Bário (1000 µg/L)

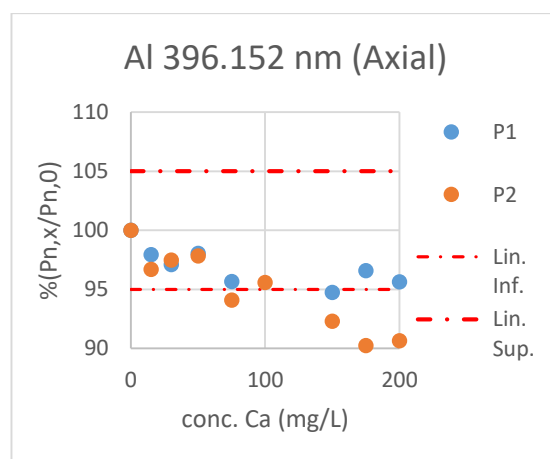
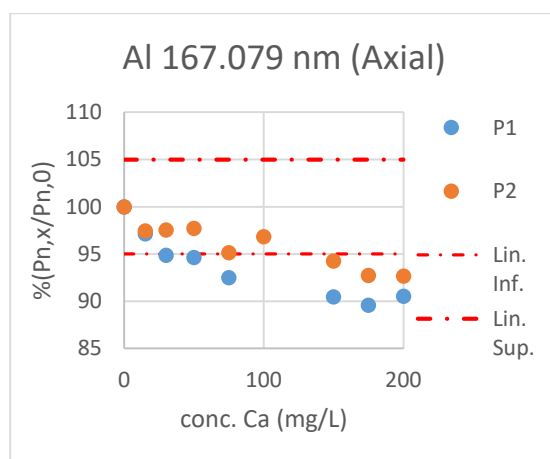
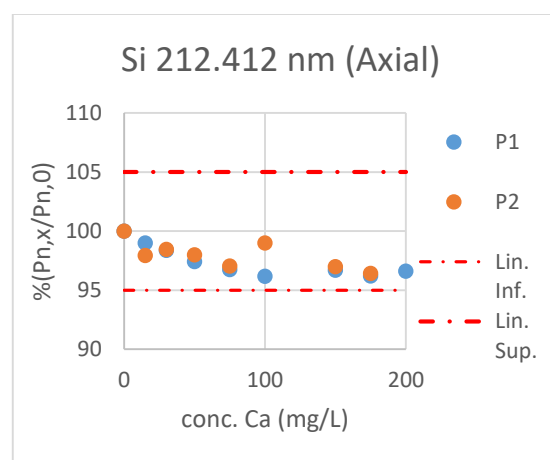
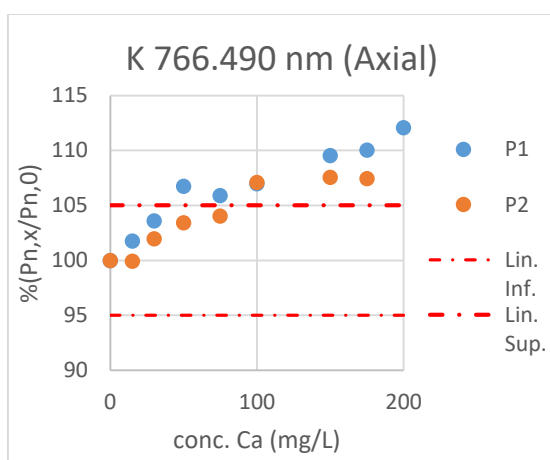
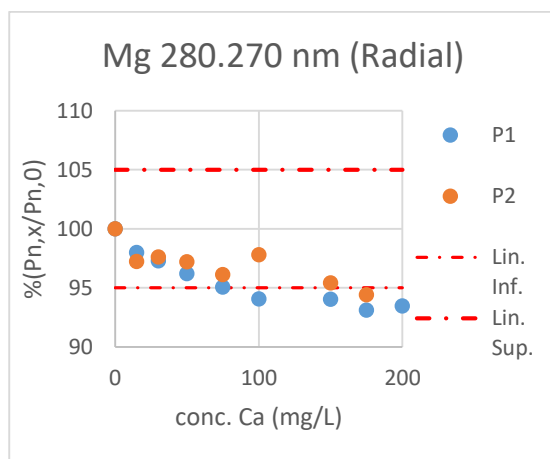
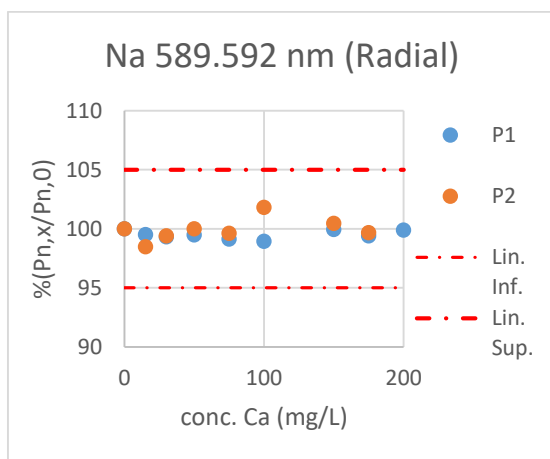


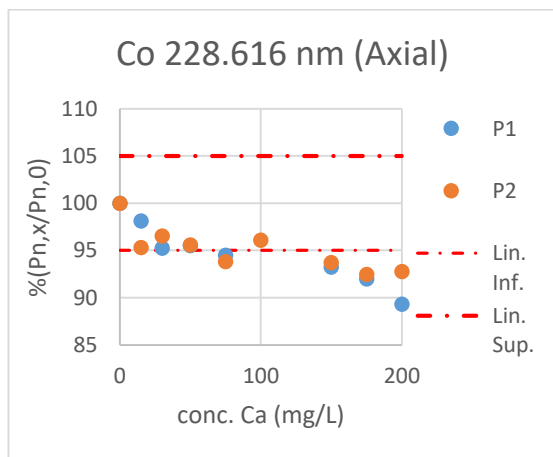
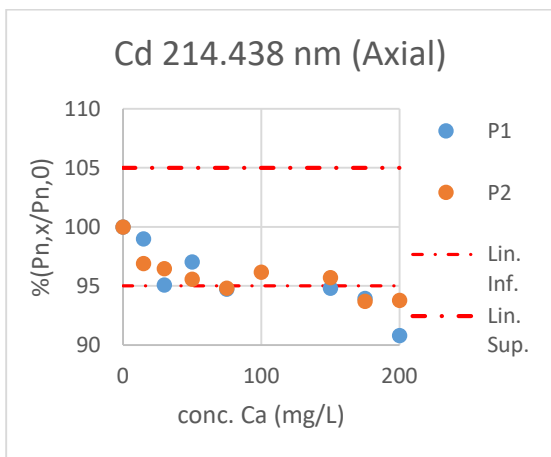
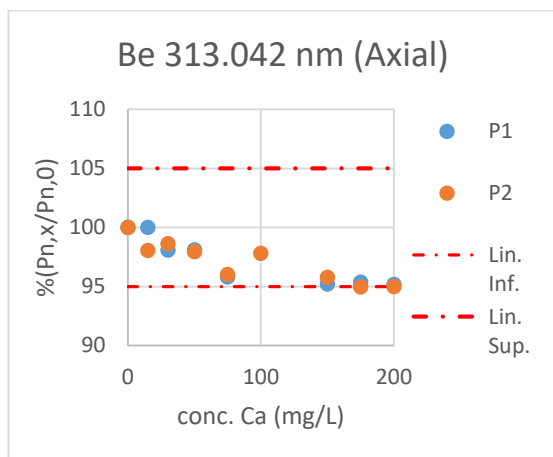
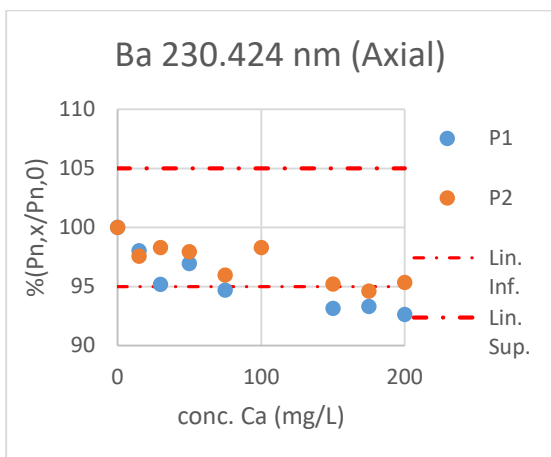
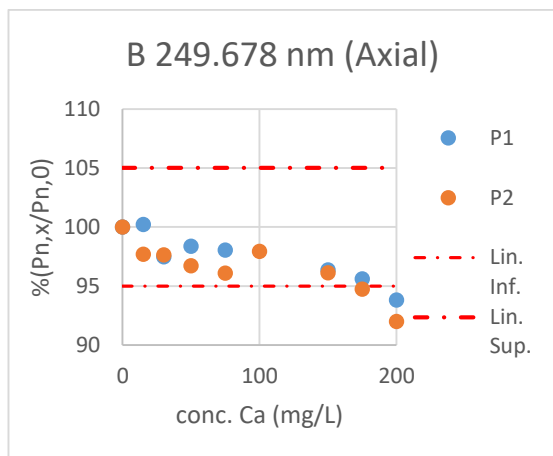
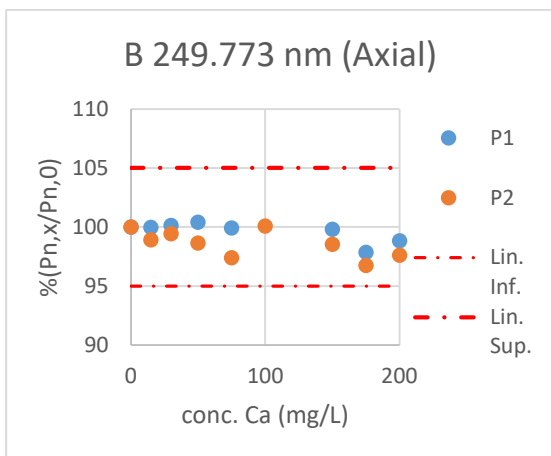


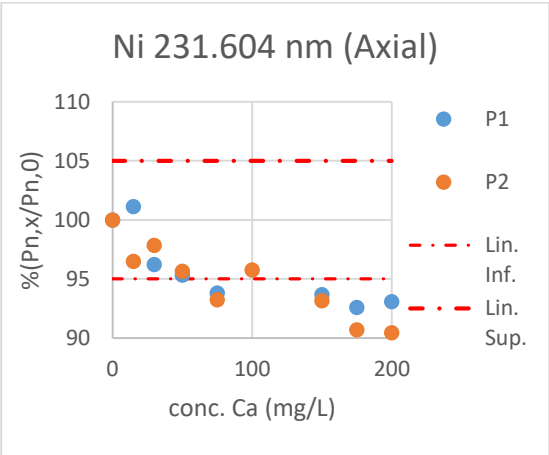
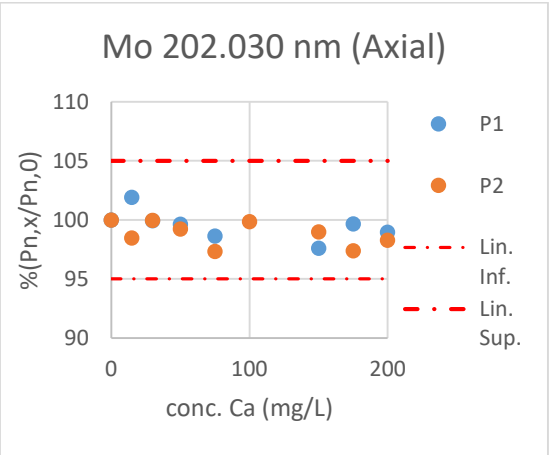
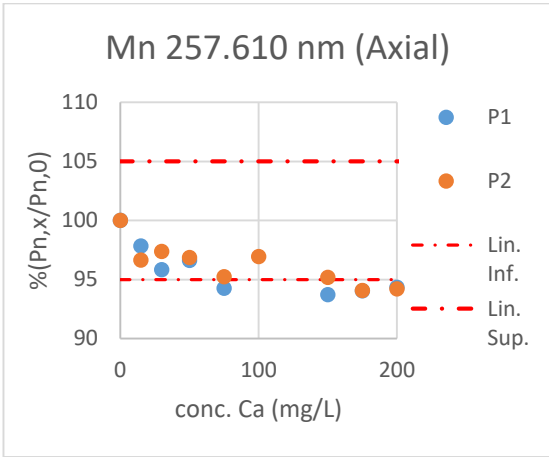
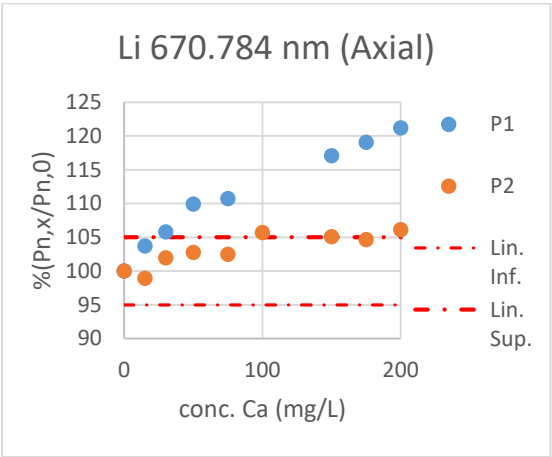
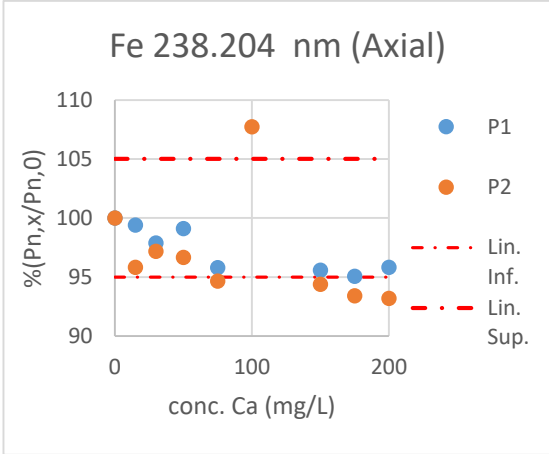
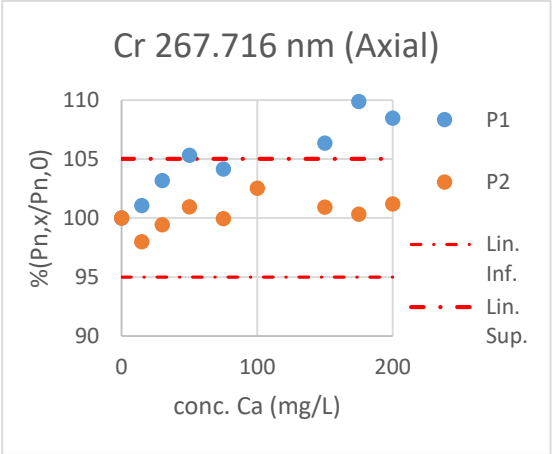


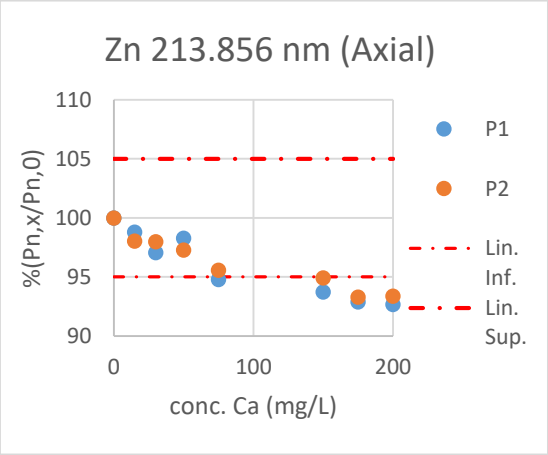
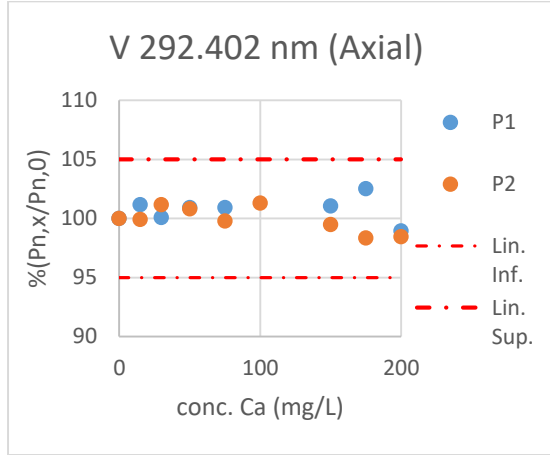
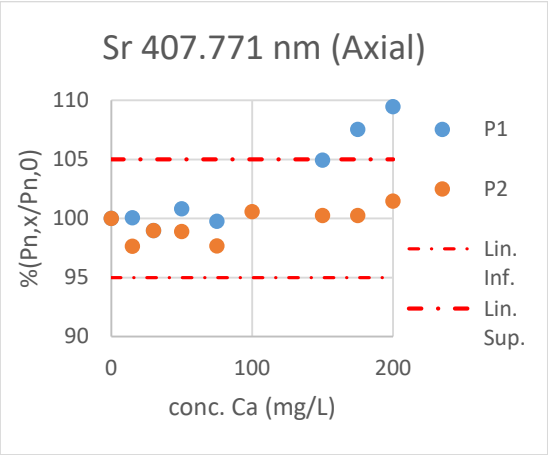
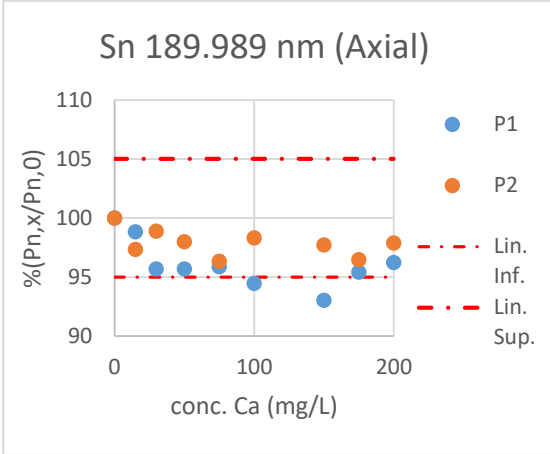
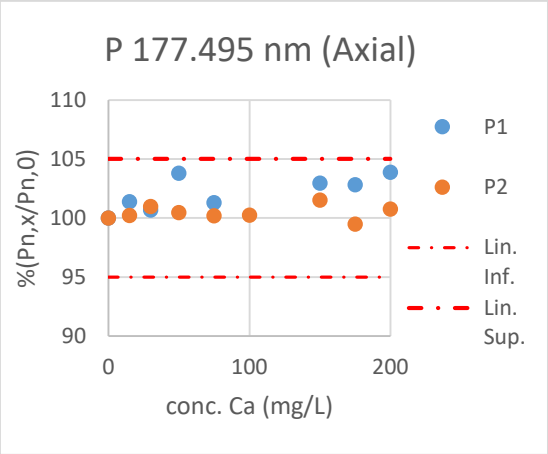


Cálcio (200 mg/L)

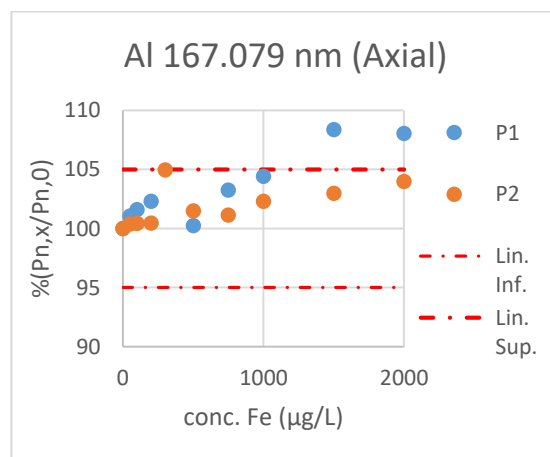
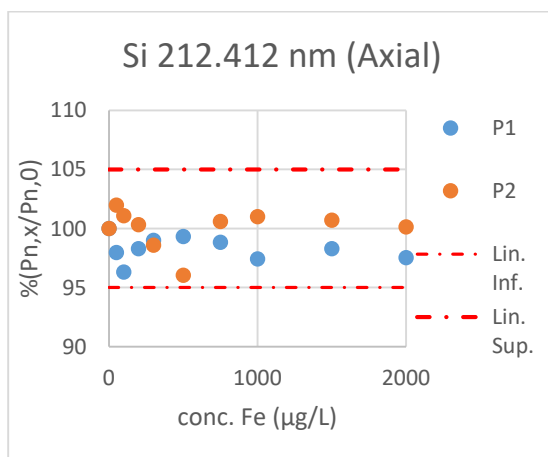
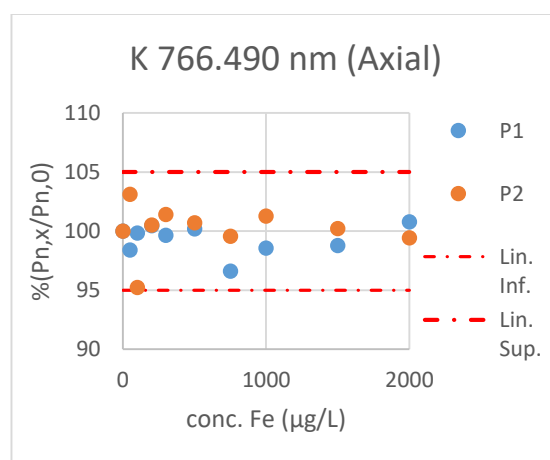
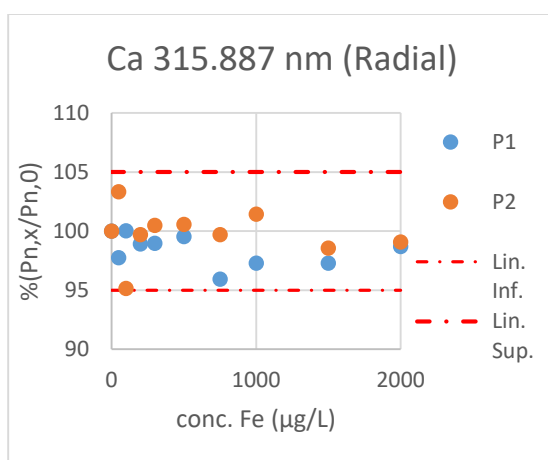
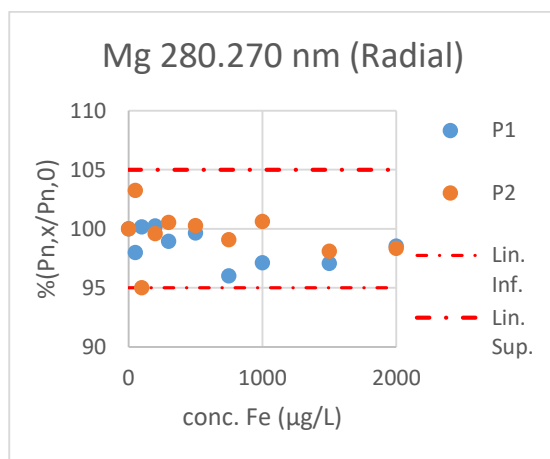
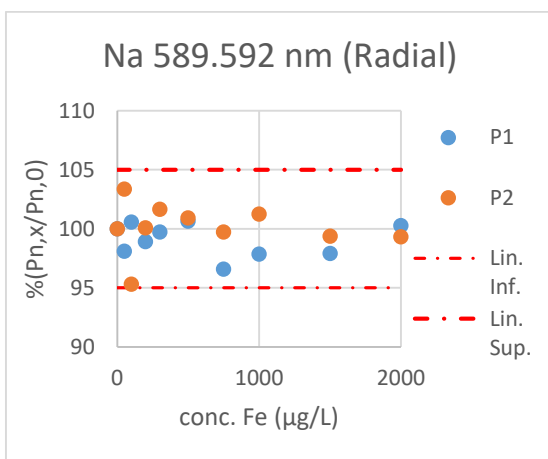


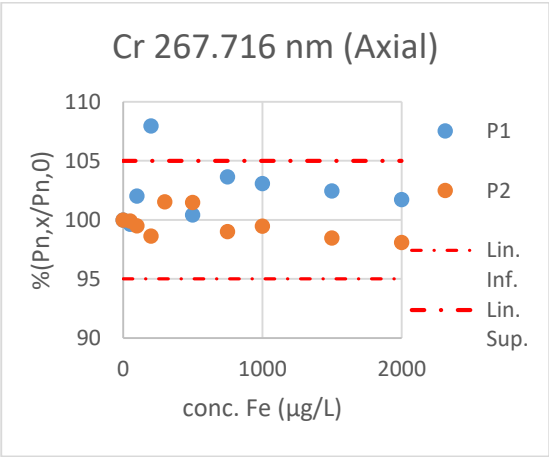
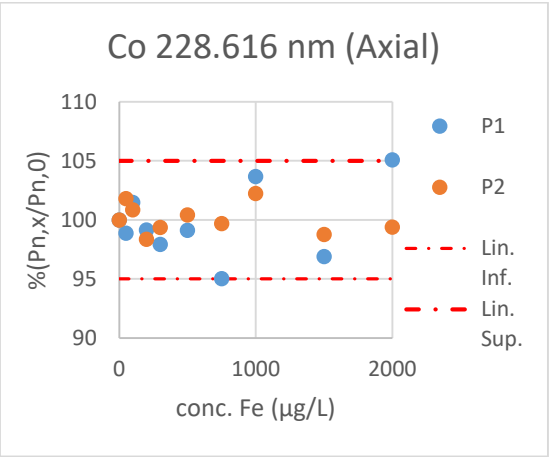
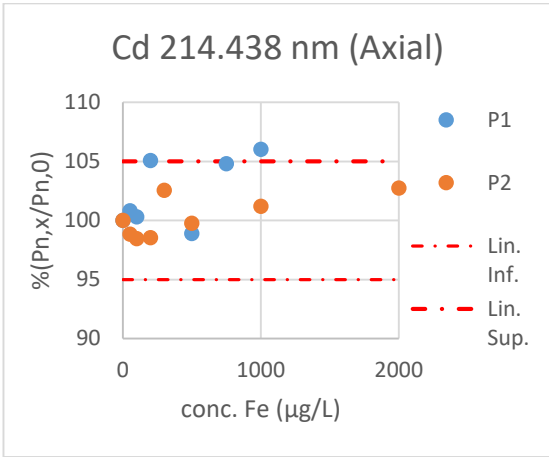
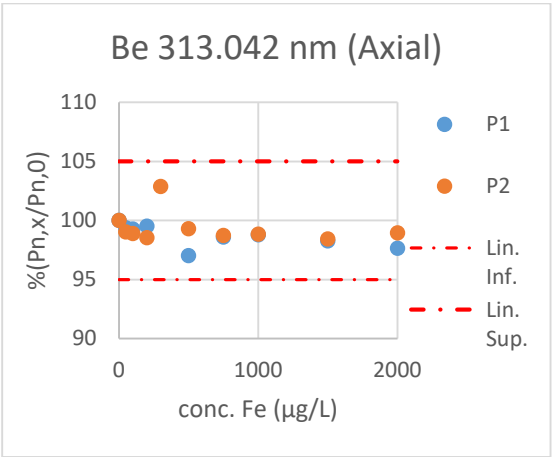
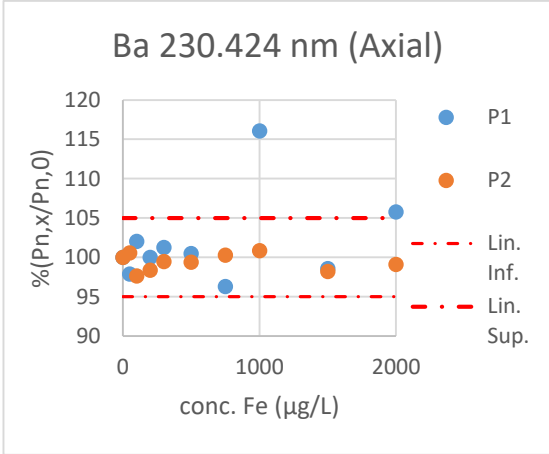
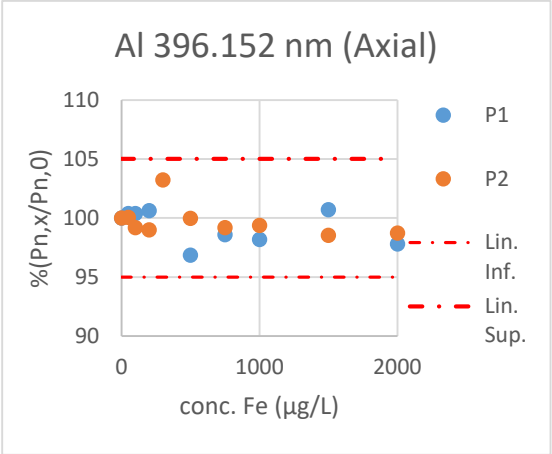


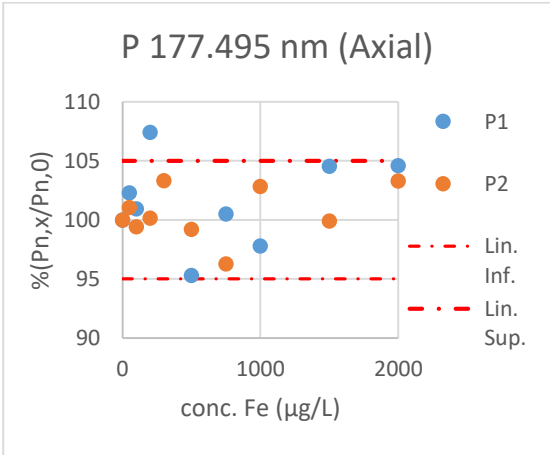
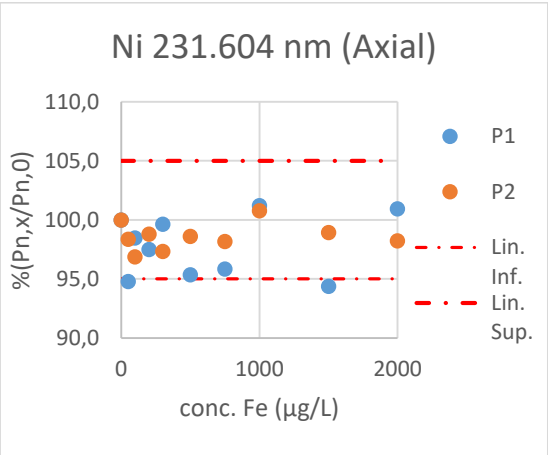
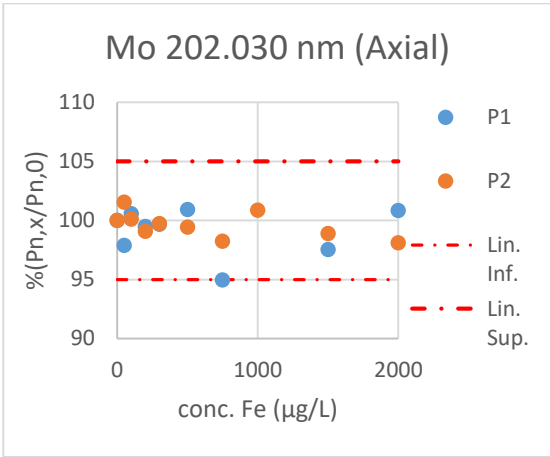
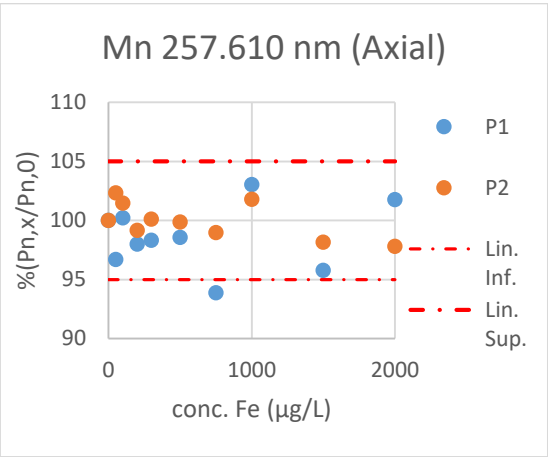
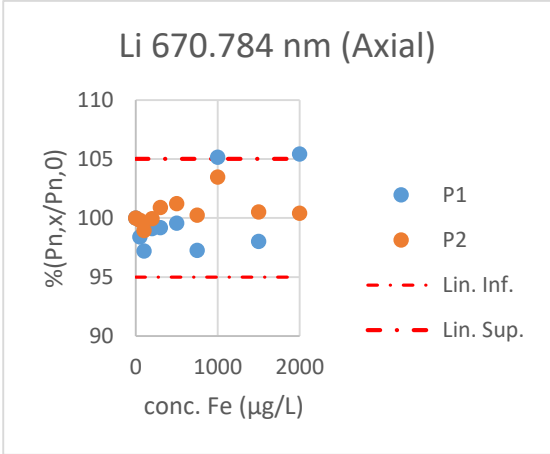
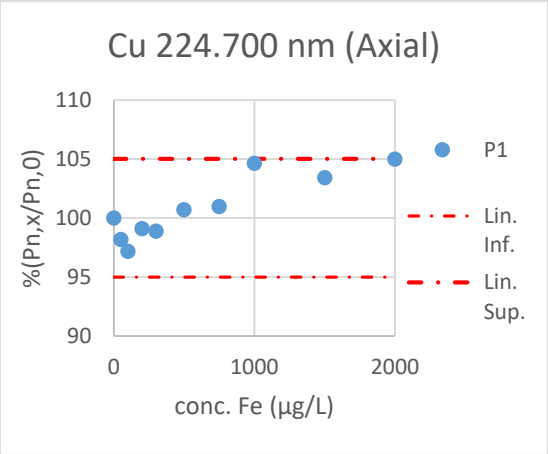


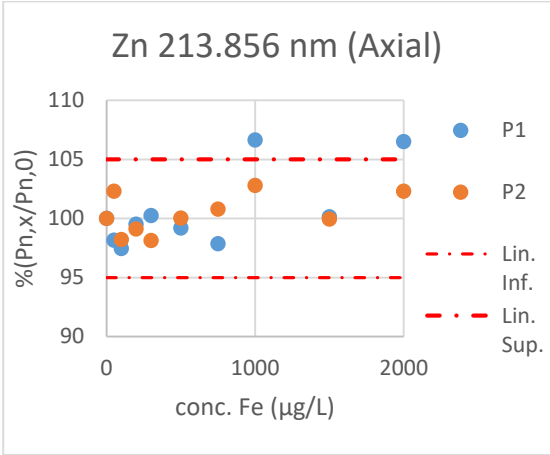
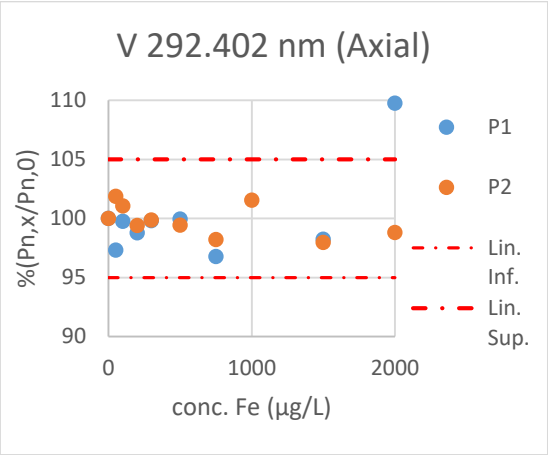
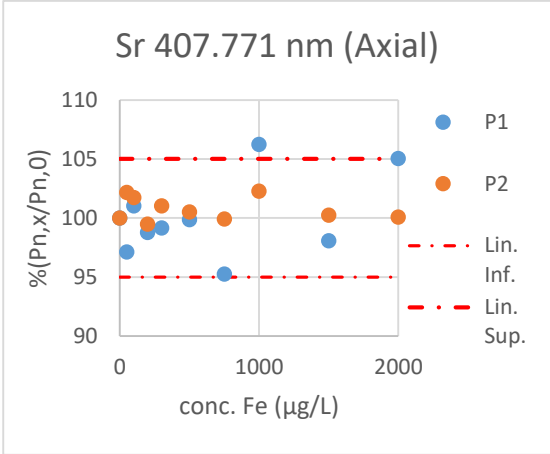
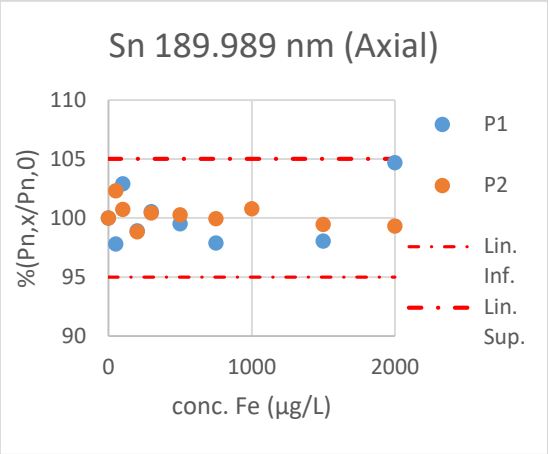


Ferro (2000 µg/L)

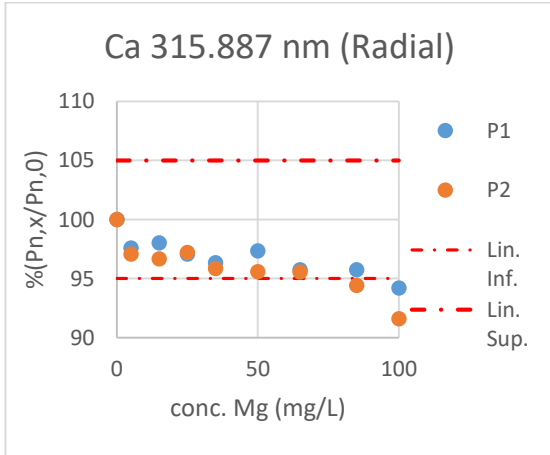
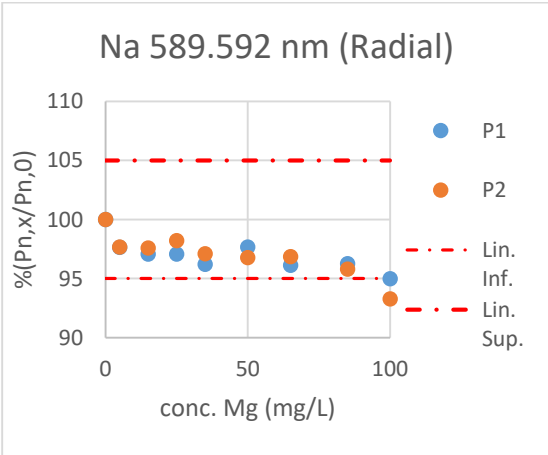


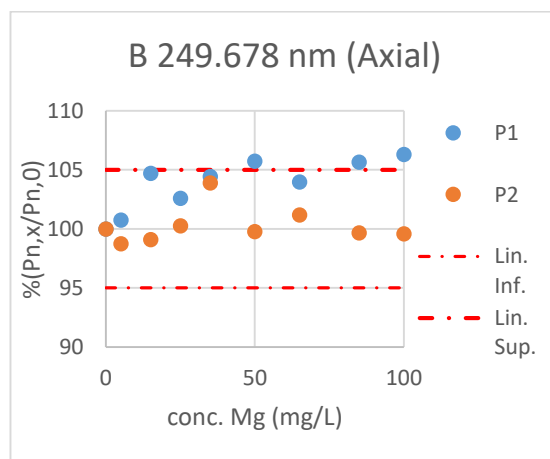
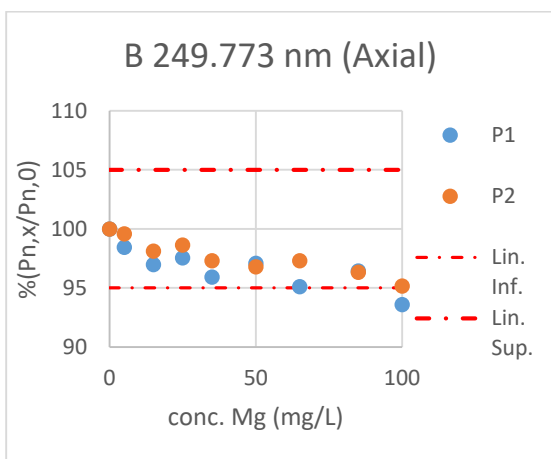
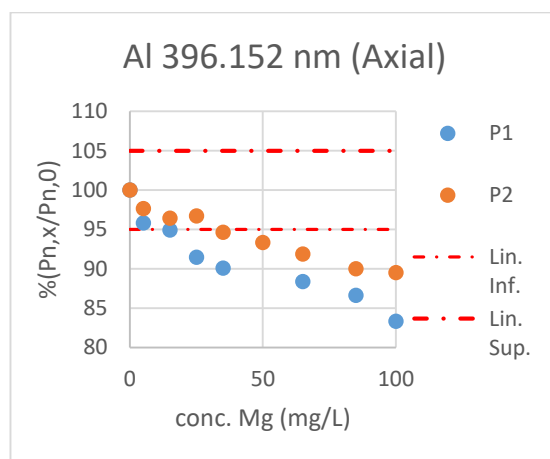
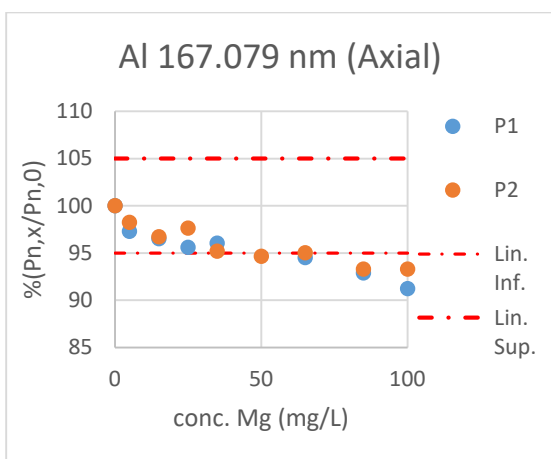
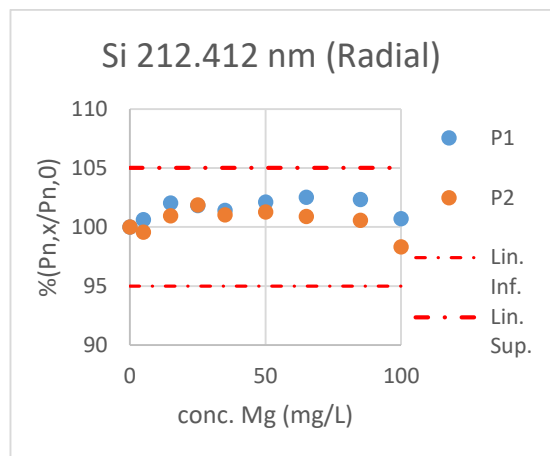
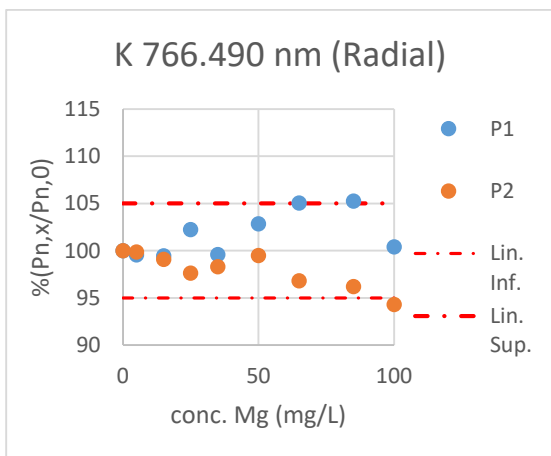


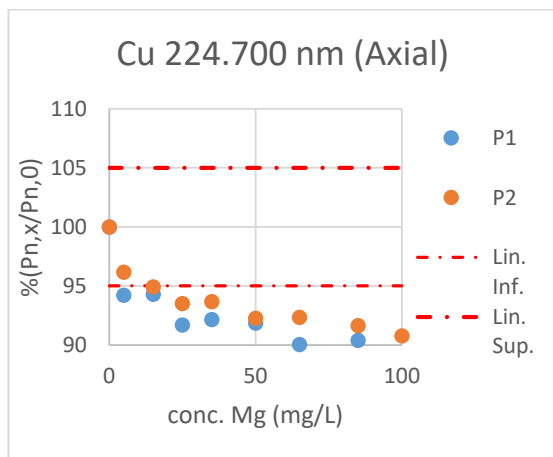
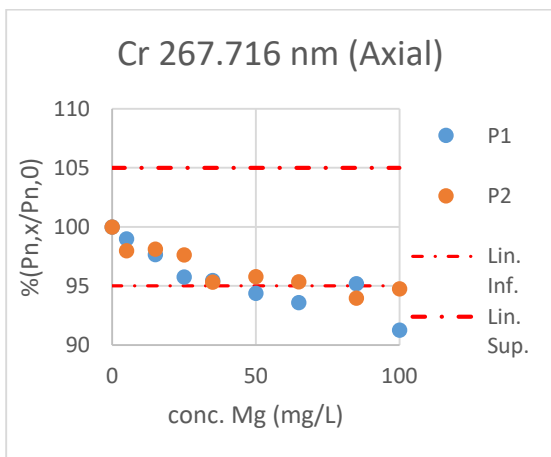
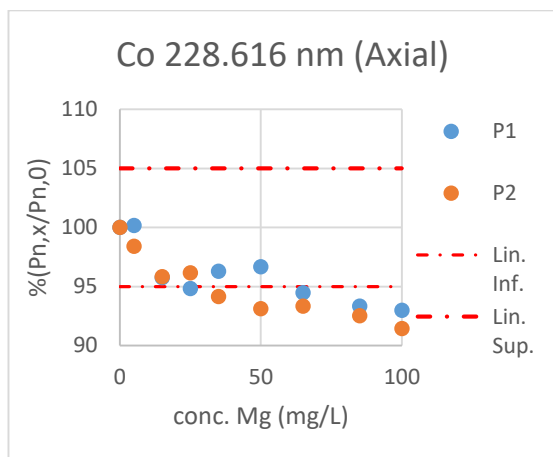
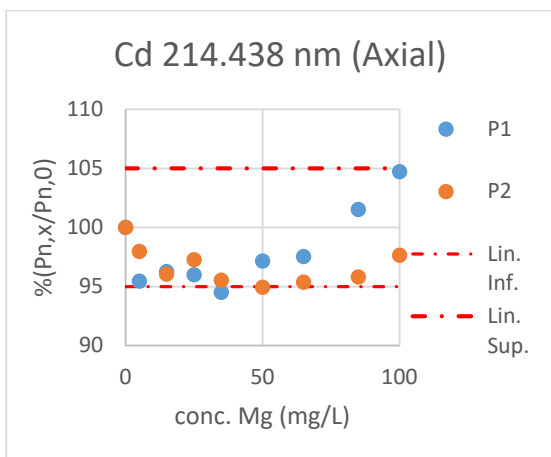
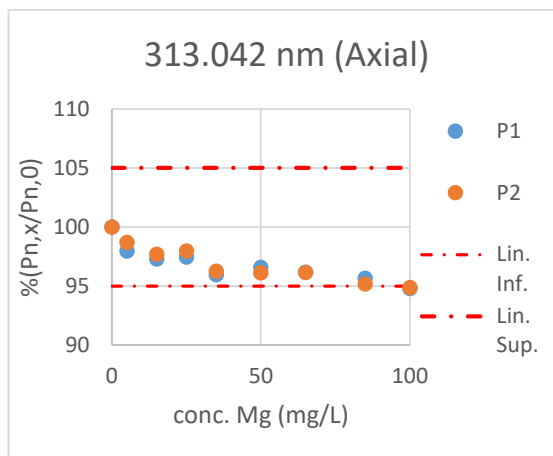
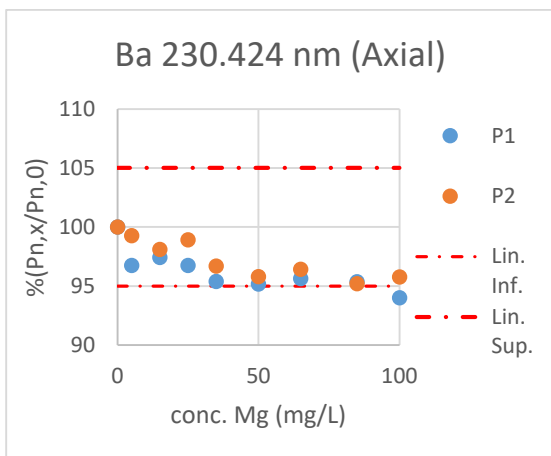


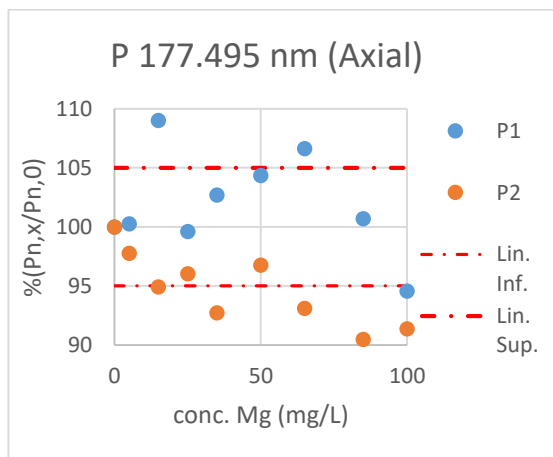
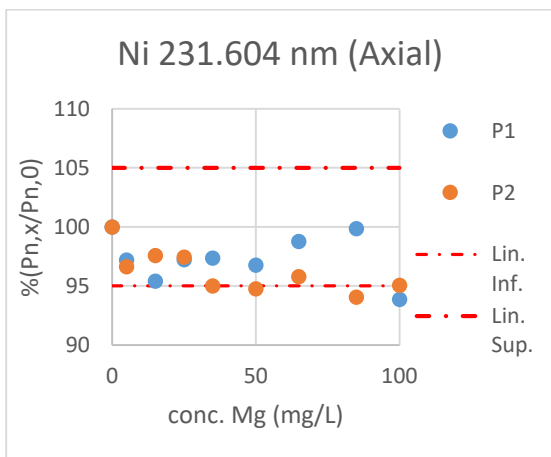
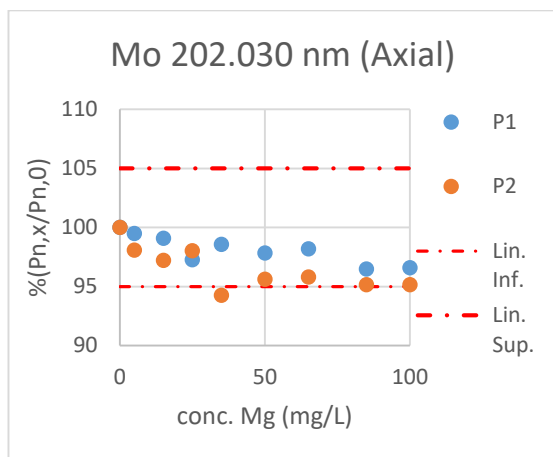
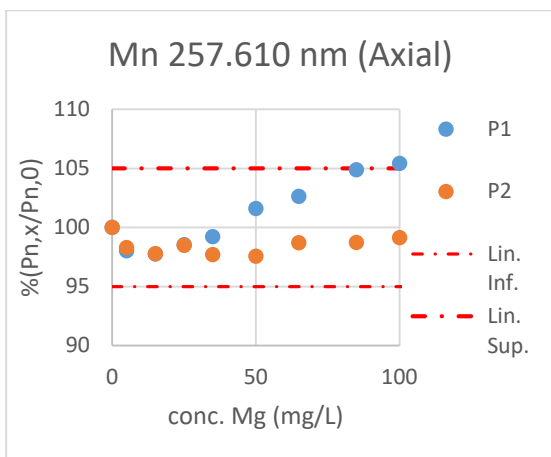
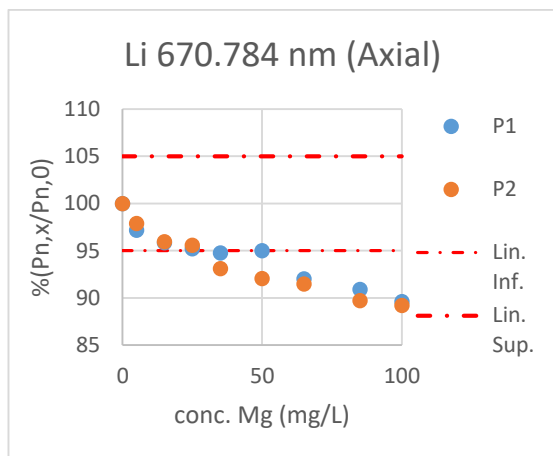
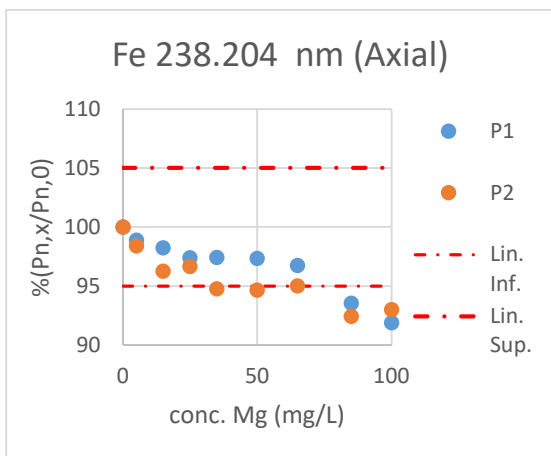


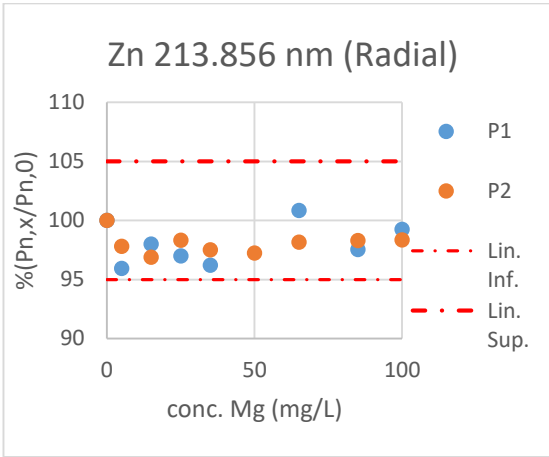
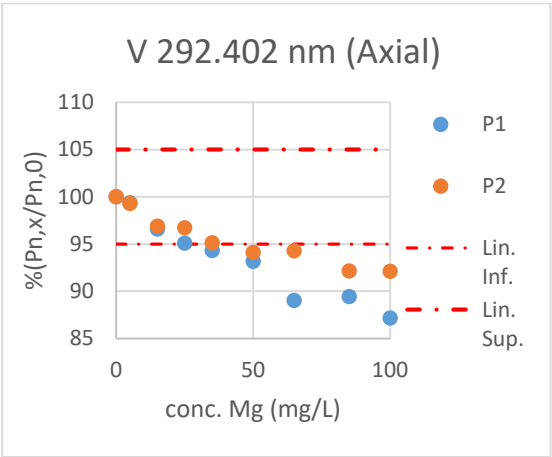
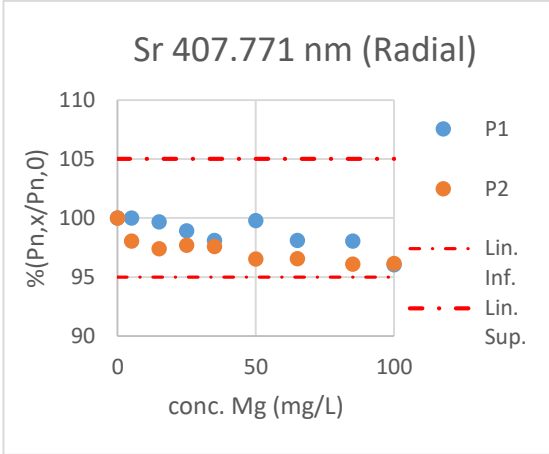
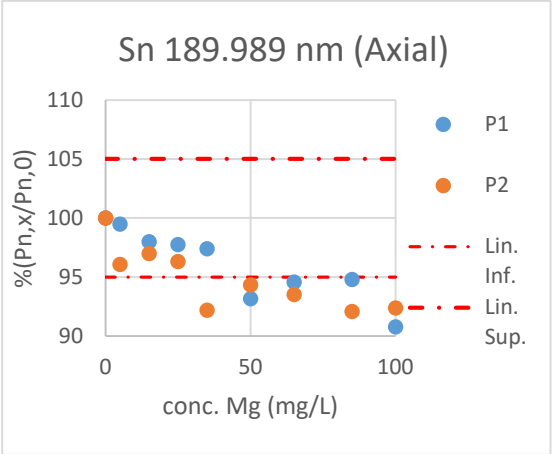
Magnésio (100 mg/L)



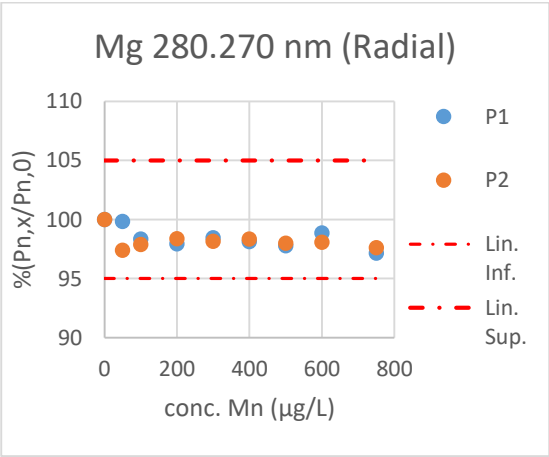
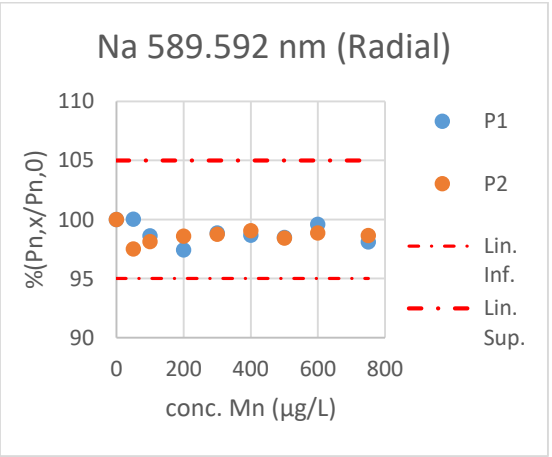


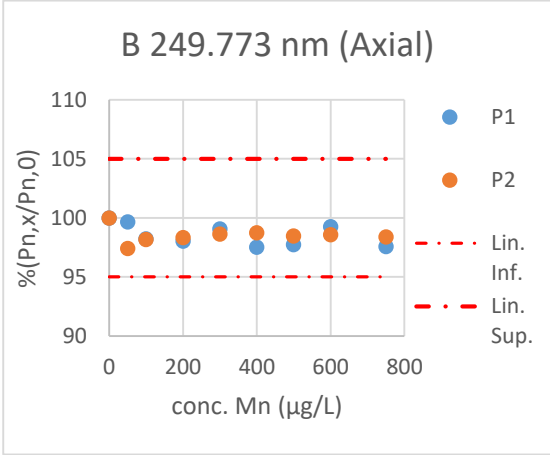
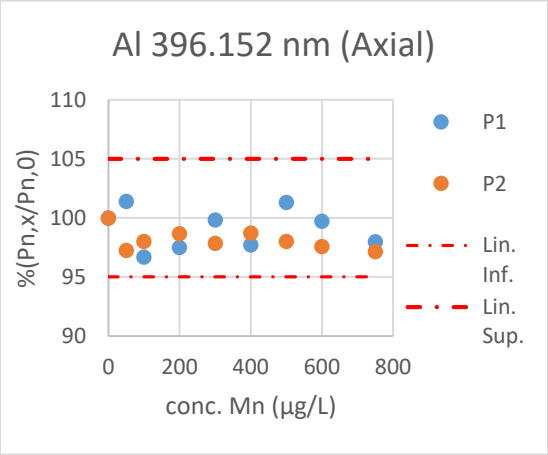
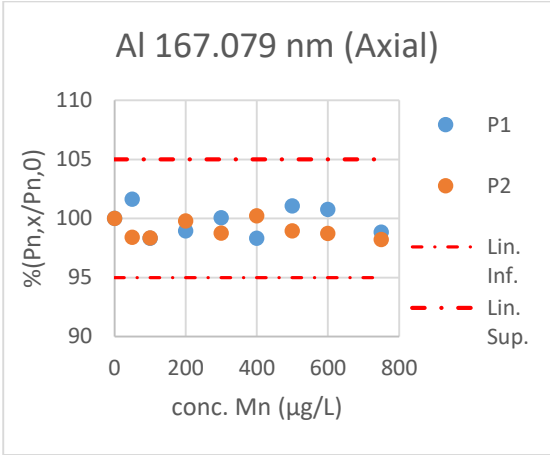
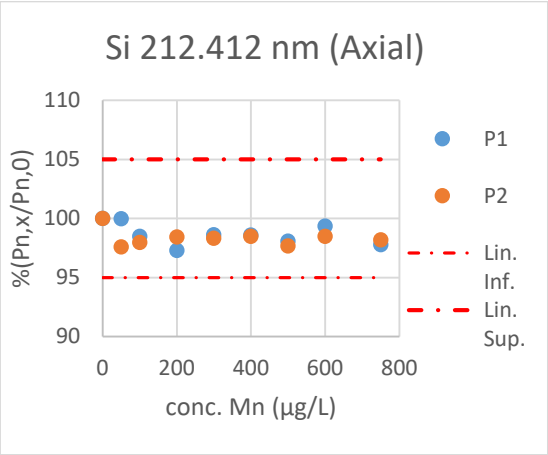
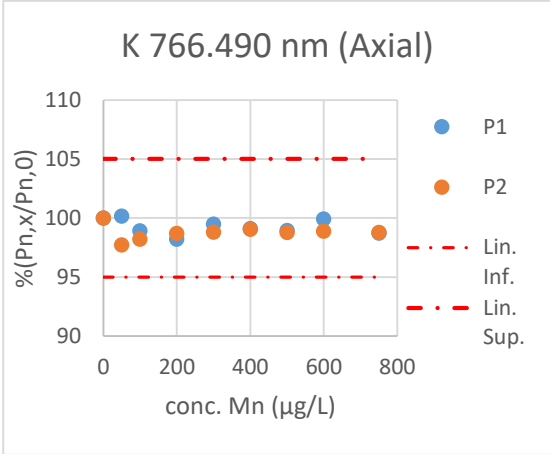
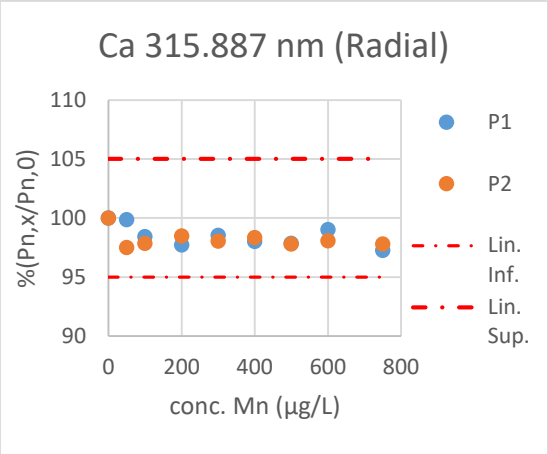


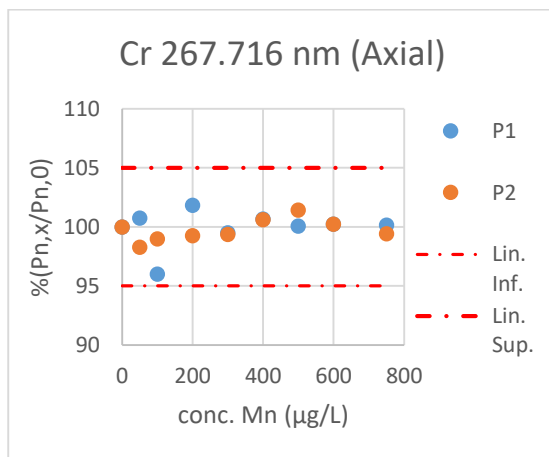
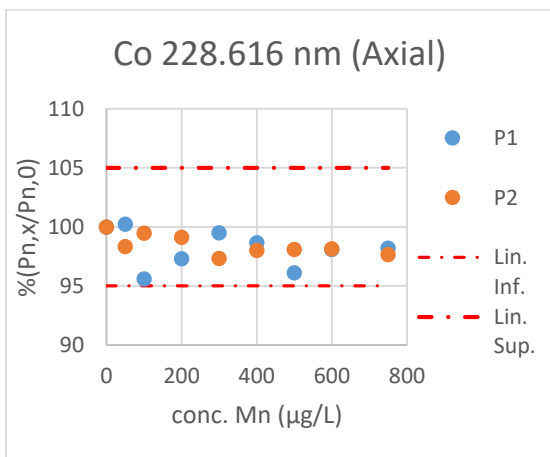
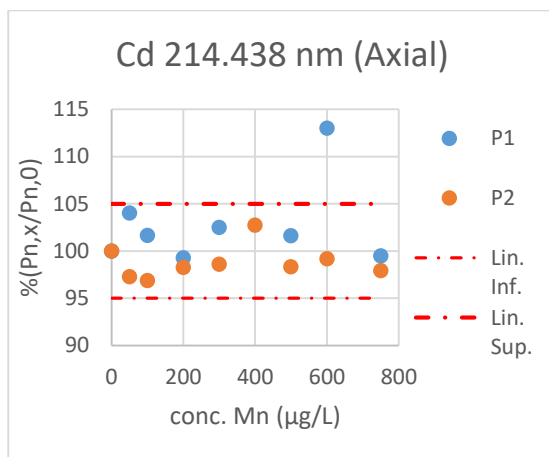
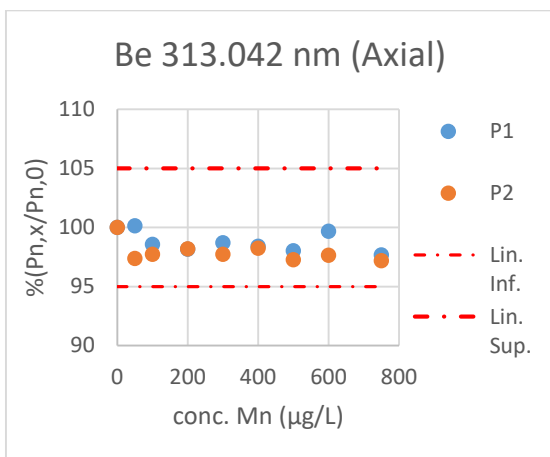
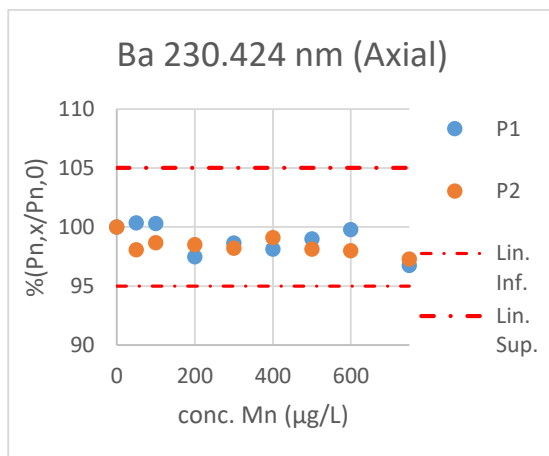
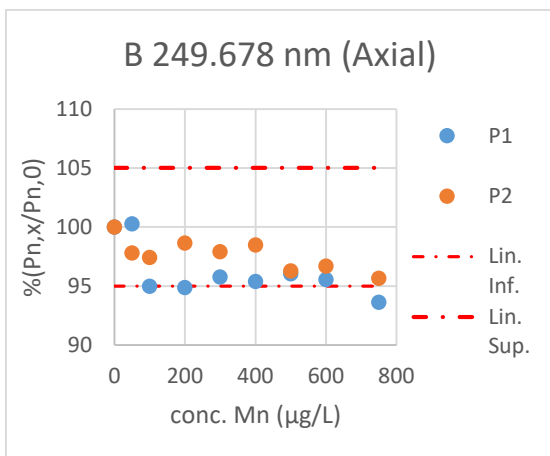


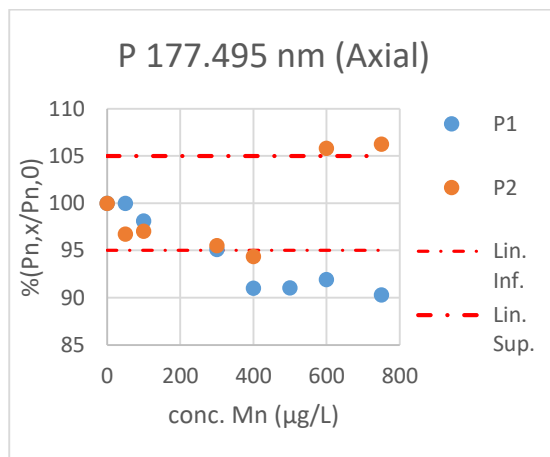
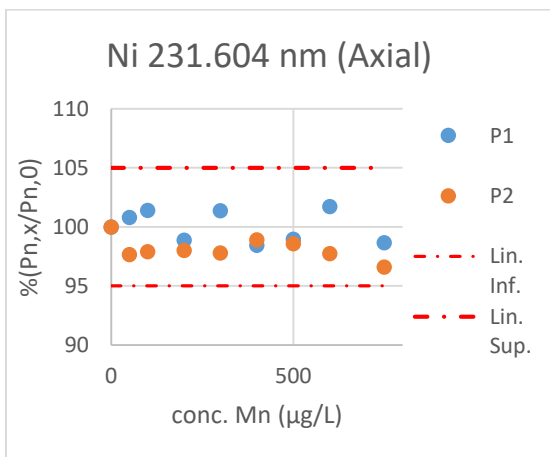
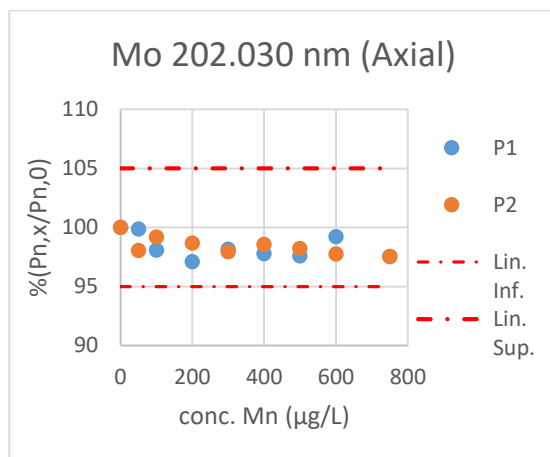
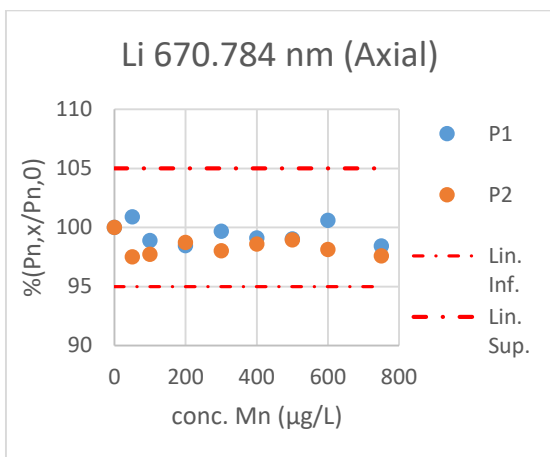
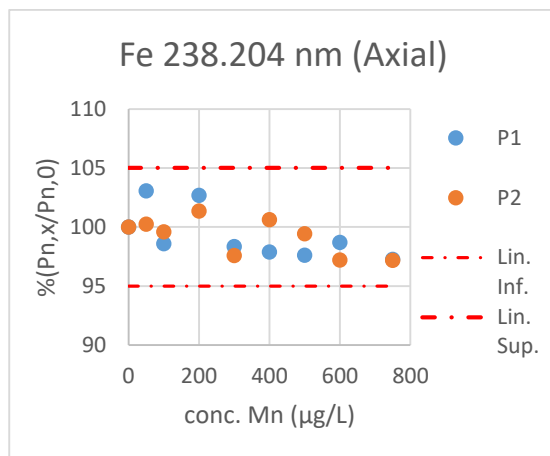
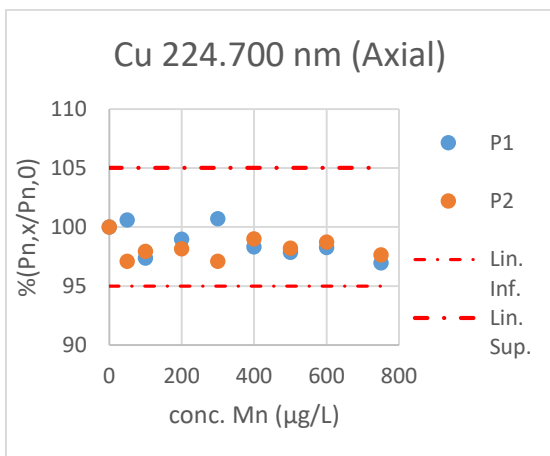


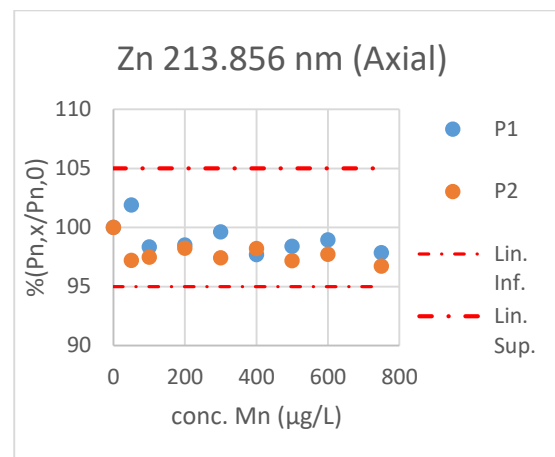
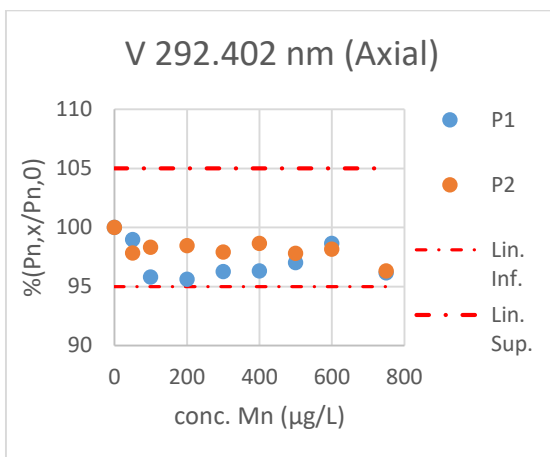
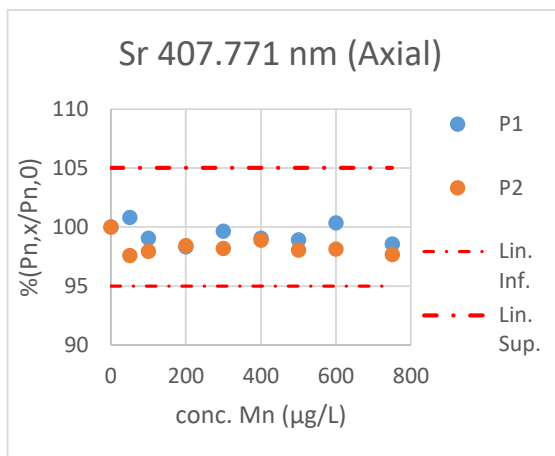
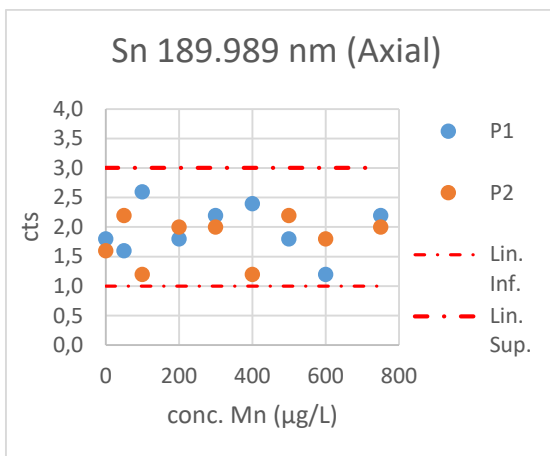
Manganês (750 µg/L)





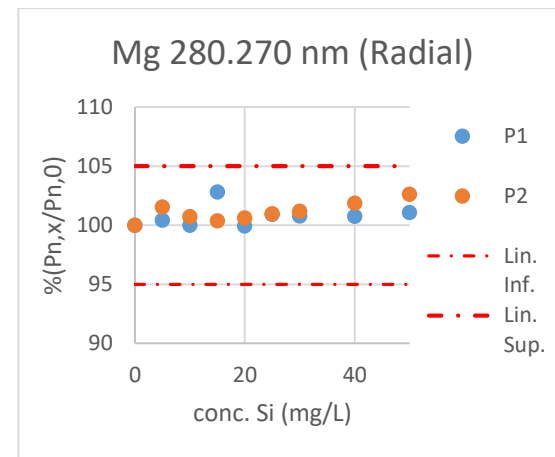
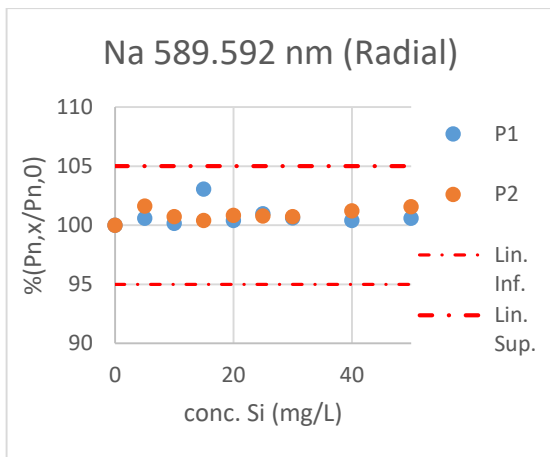


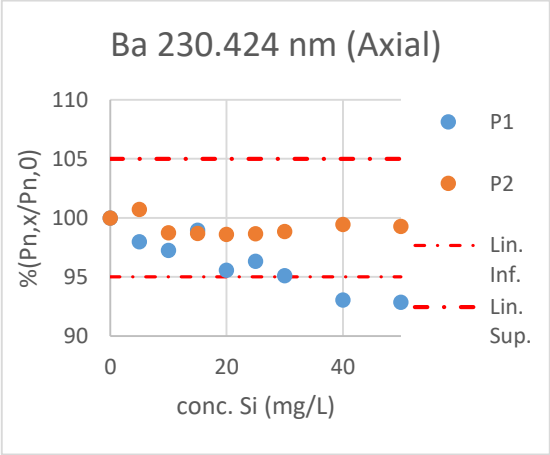
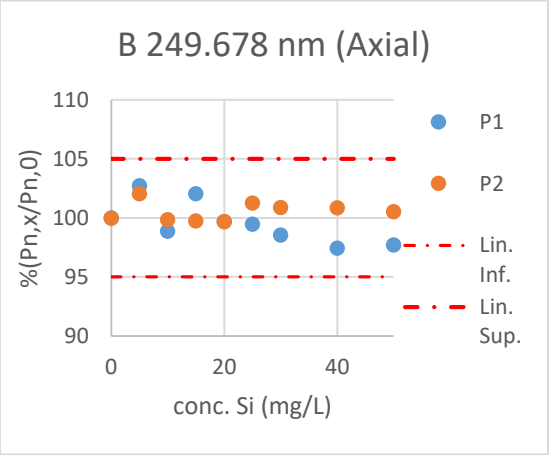
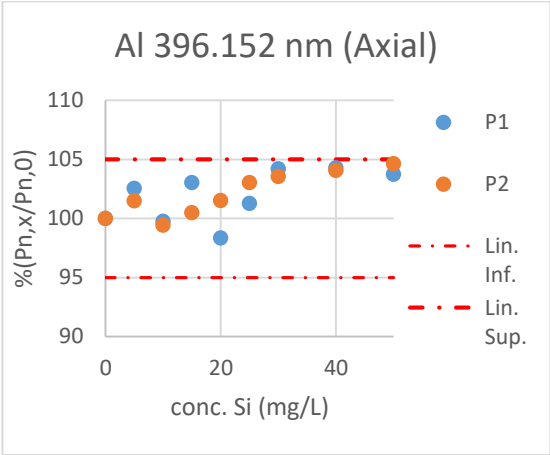
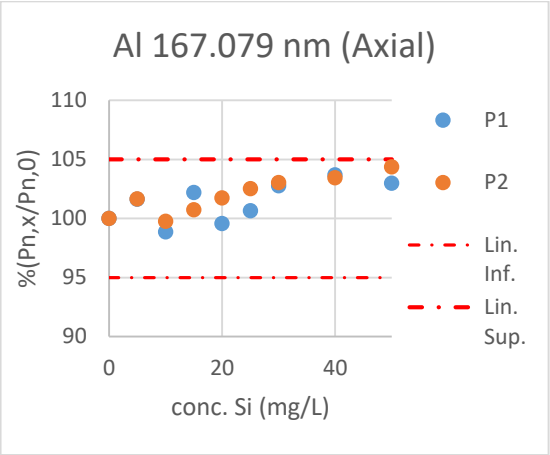
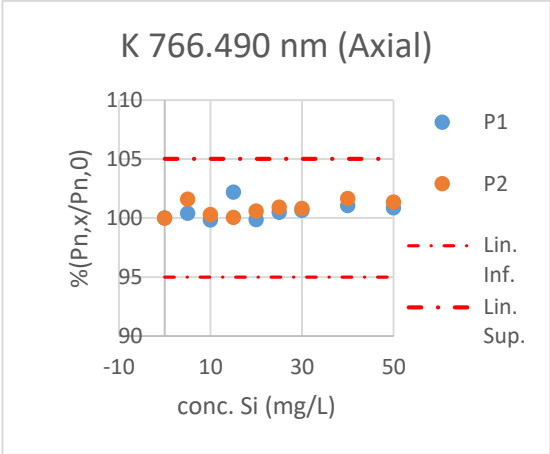
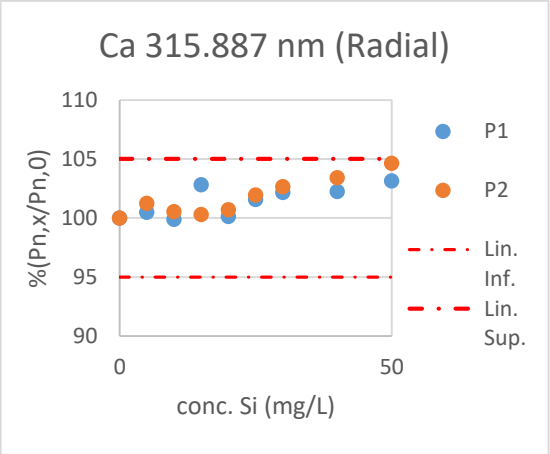


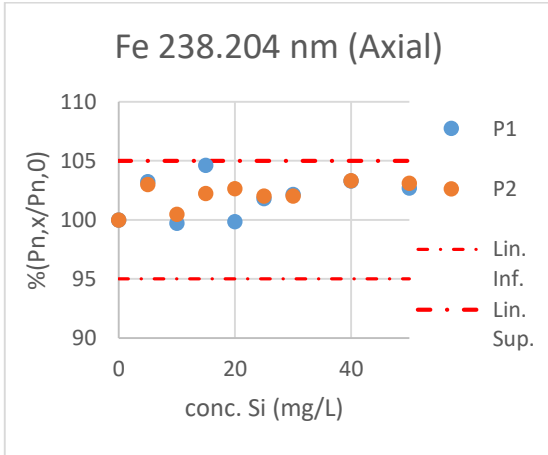
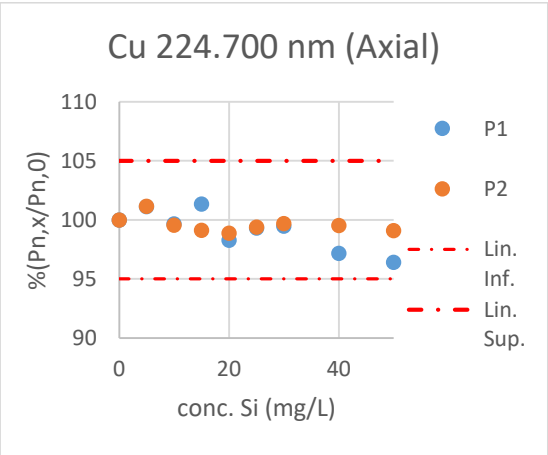
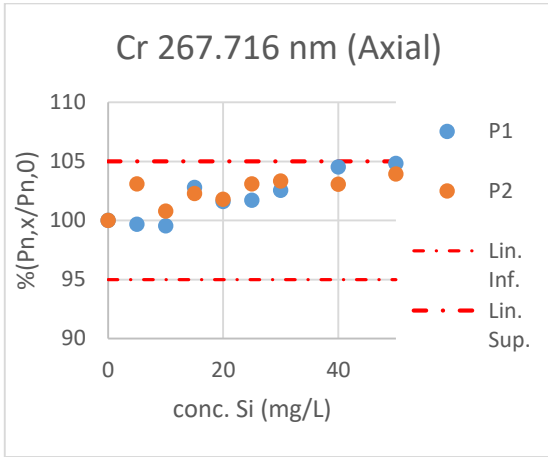
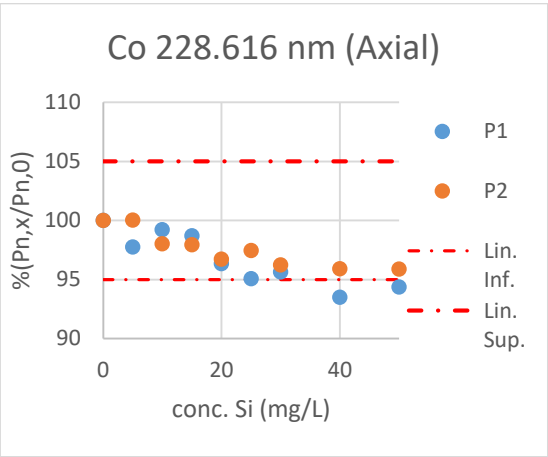
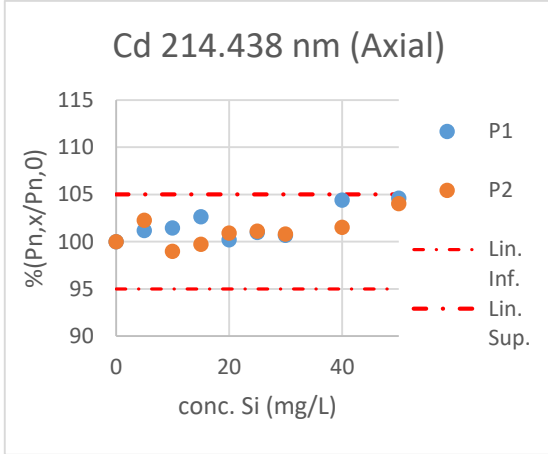
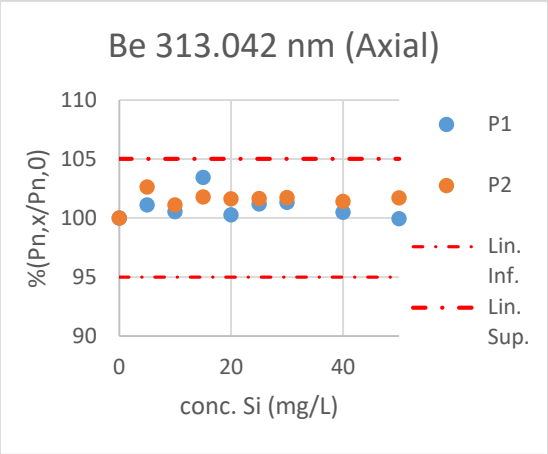


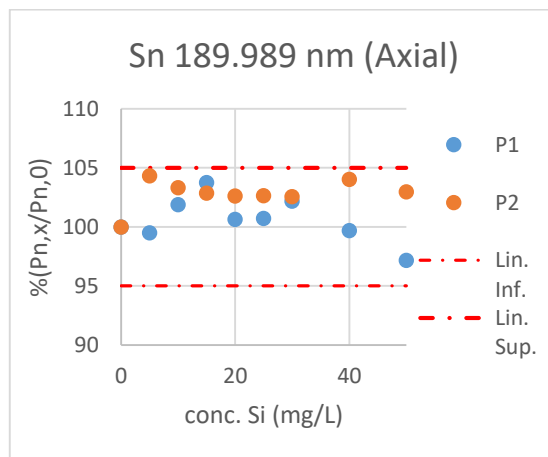
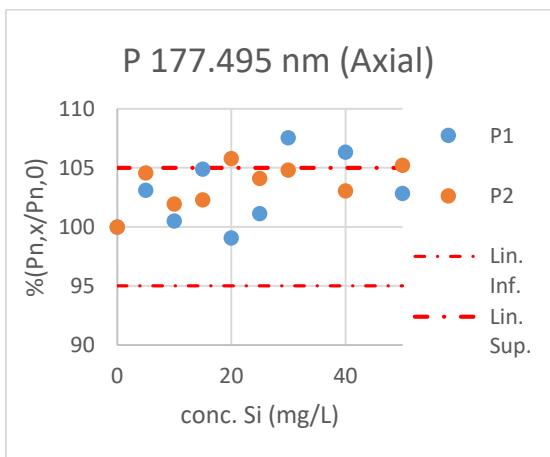
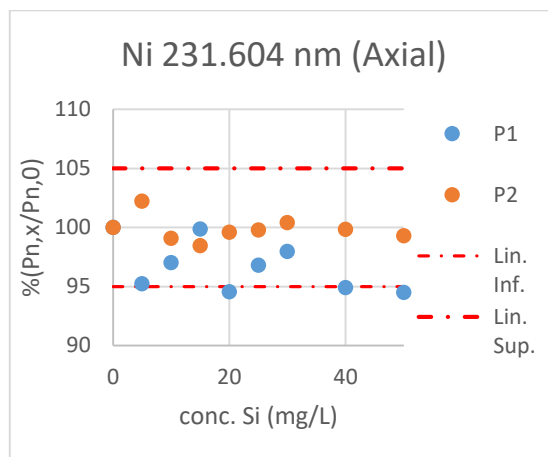
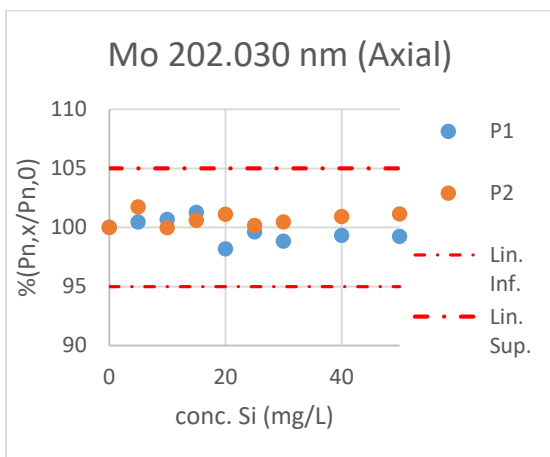
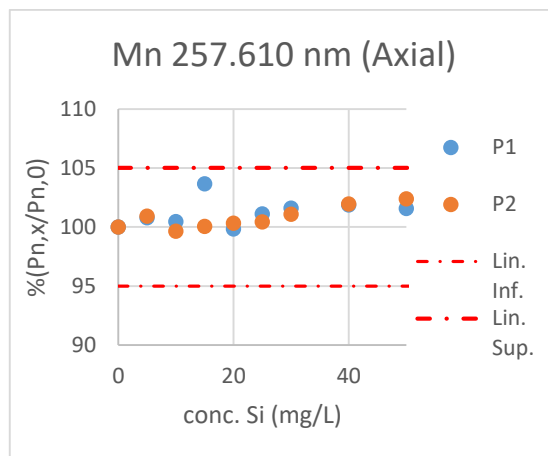
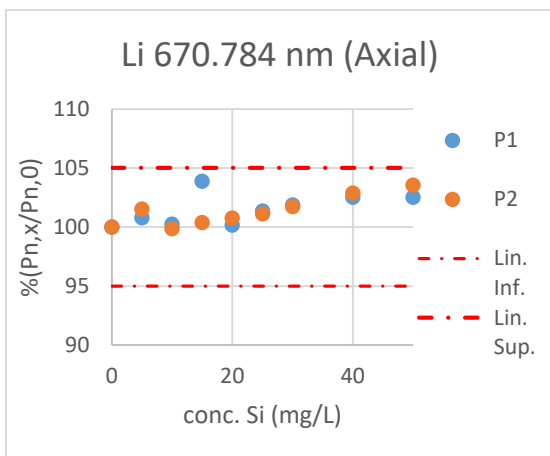
Nota: Linha de estanho estudada através da variação de sinal

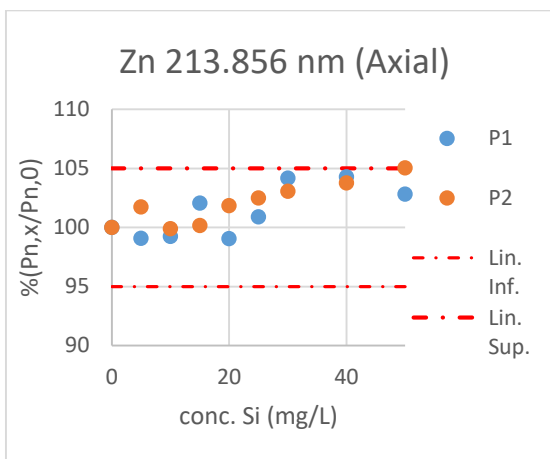
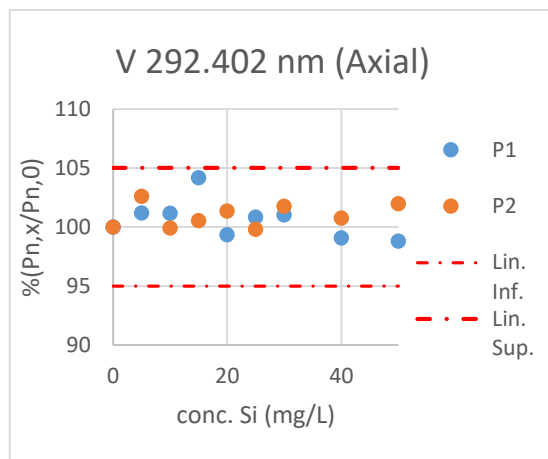
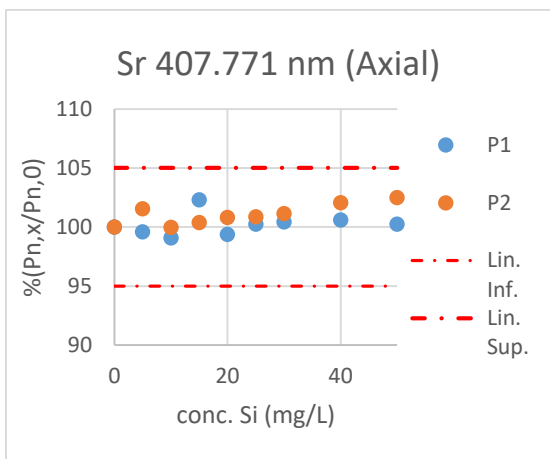
Silício (50 mg/L)



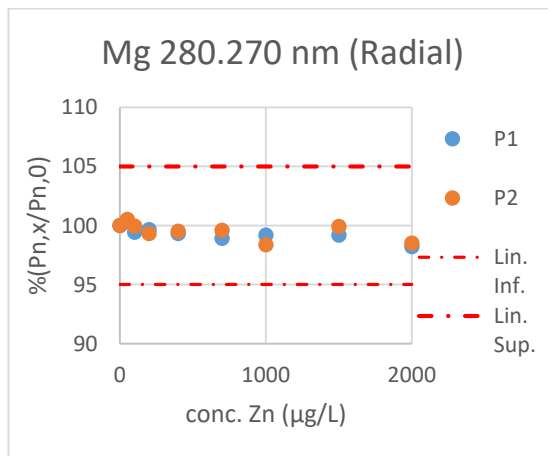
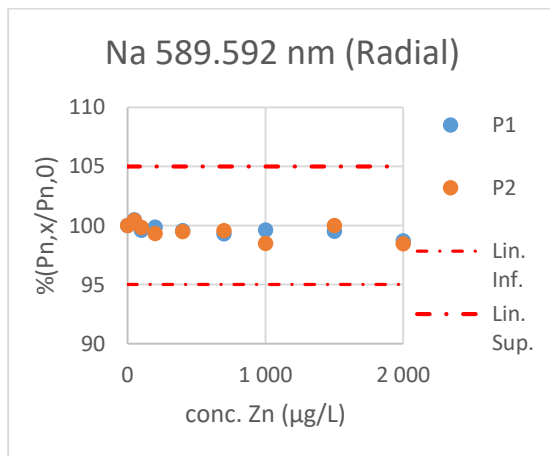


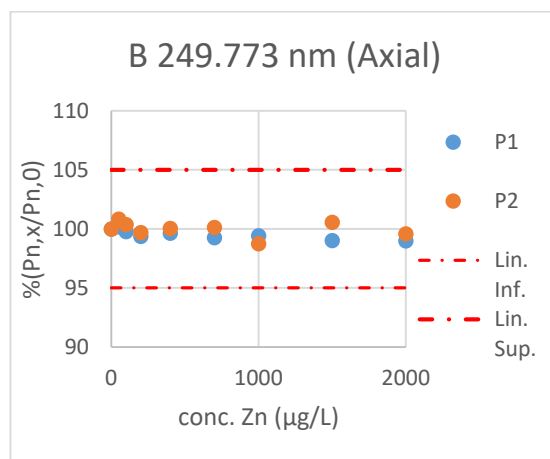
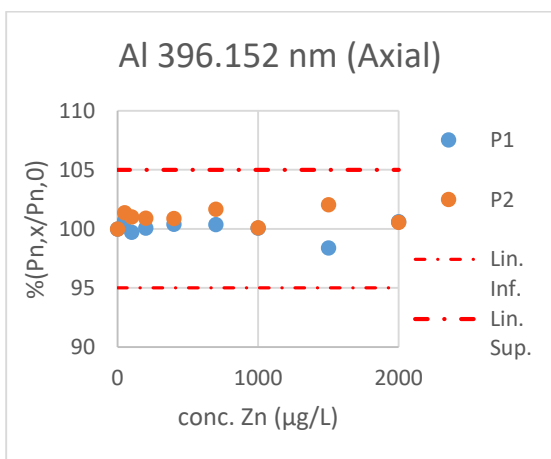
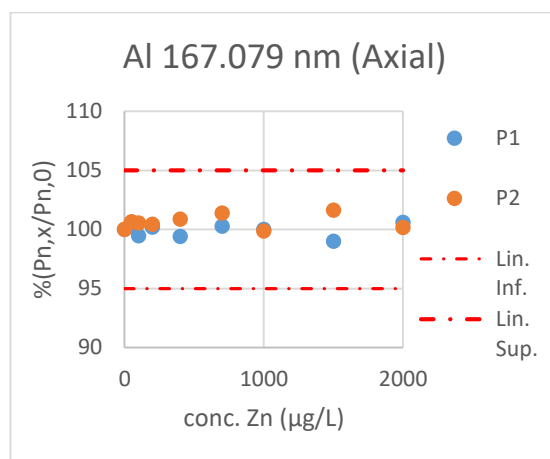
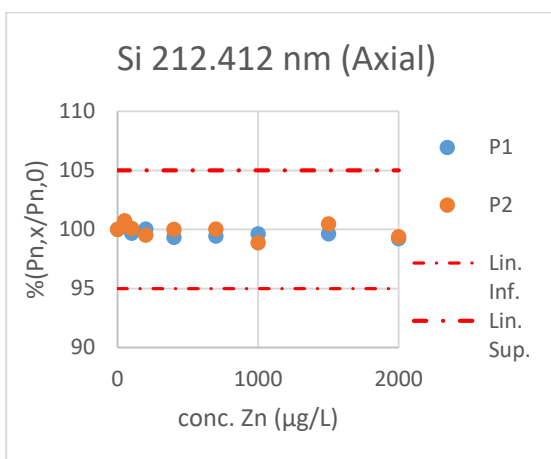
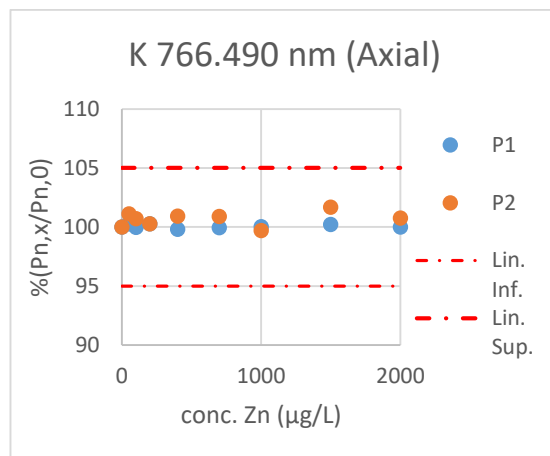
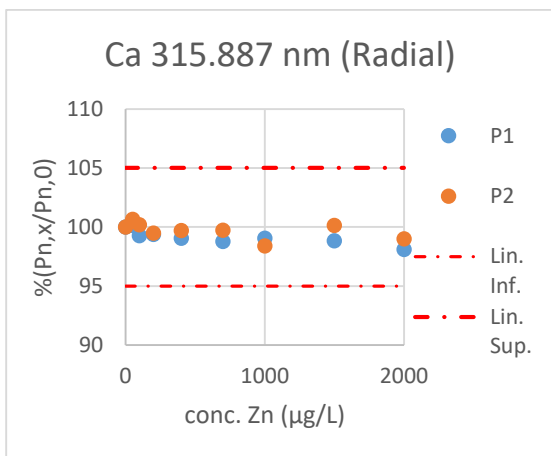


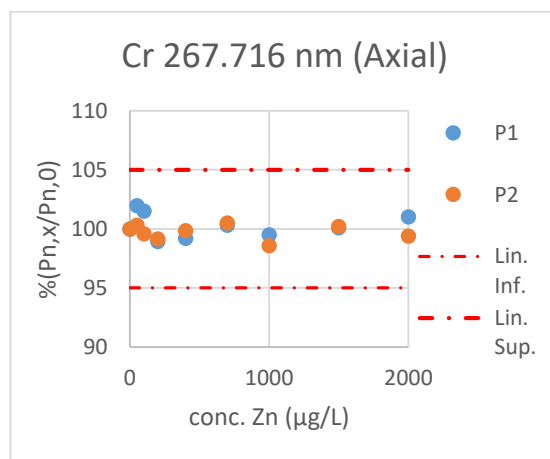
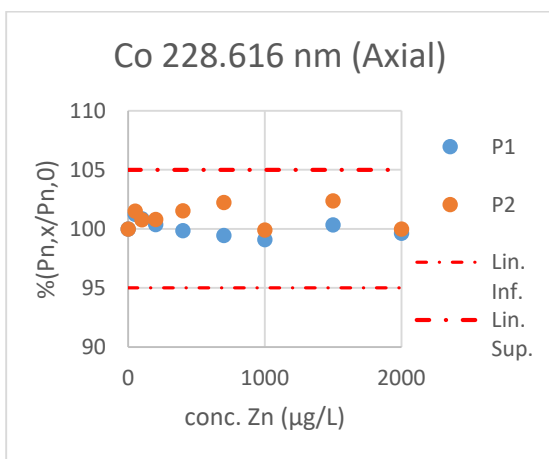
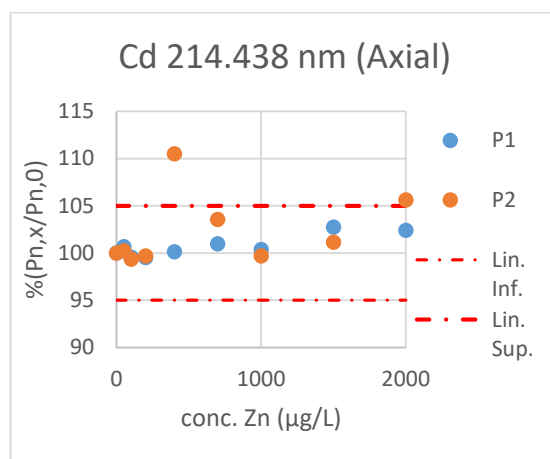
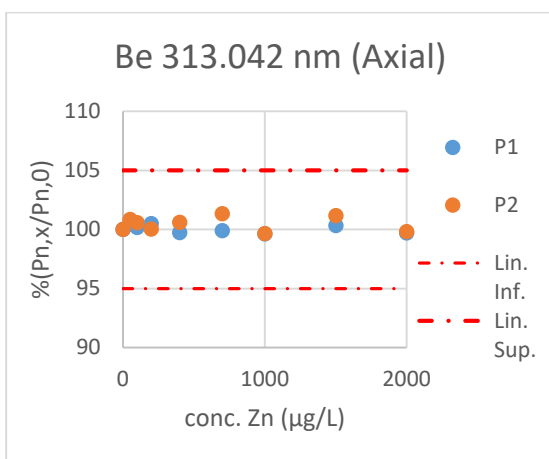
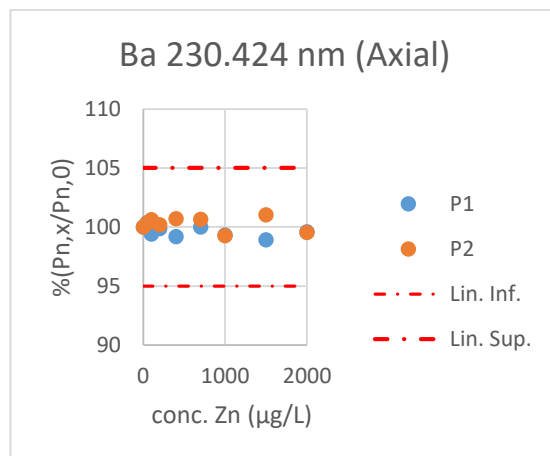
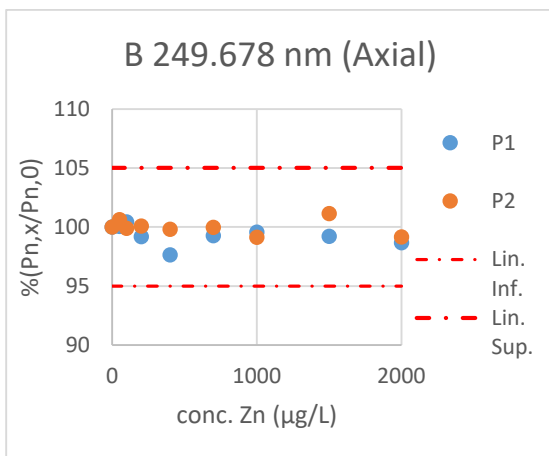


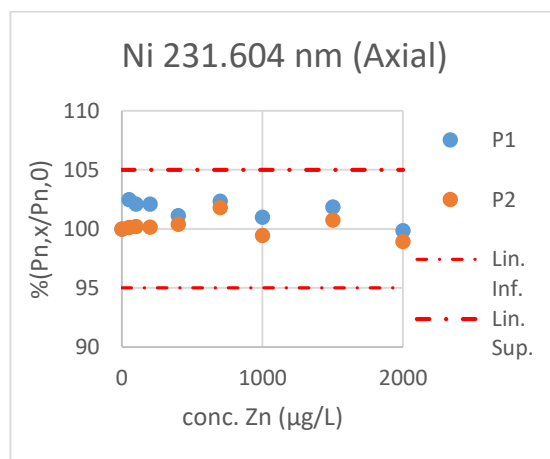
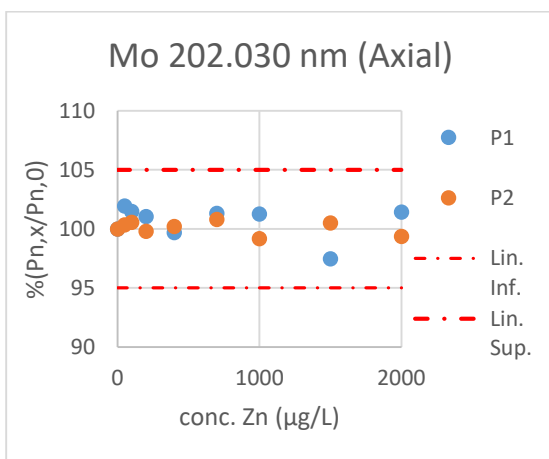
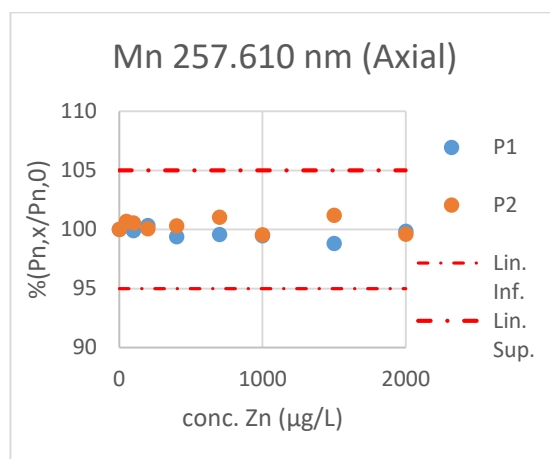
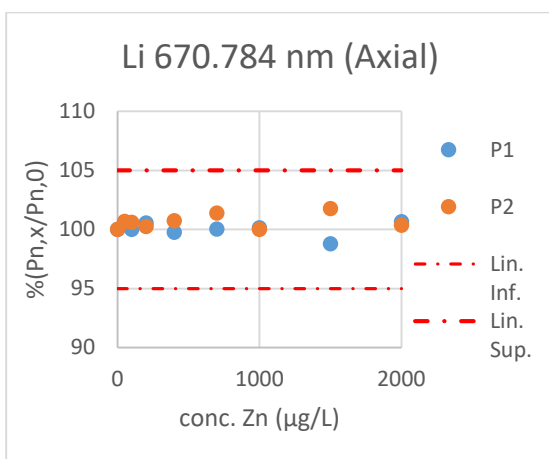
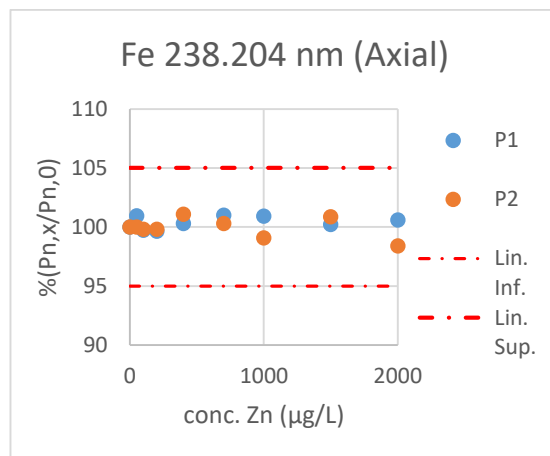
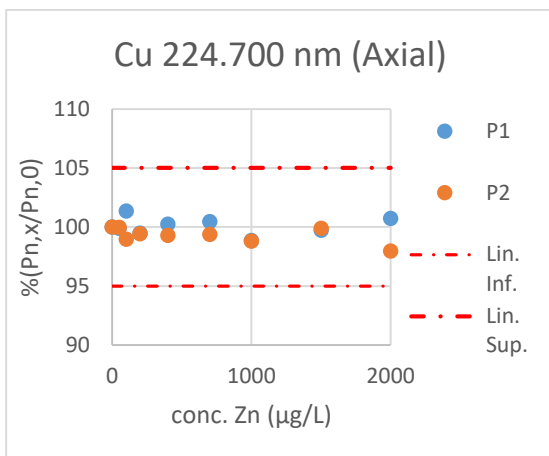


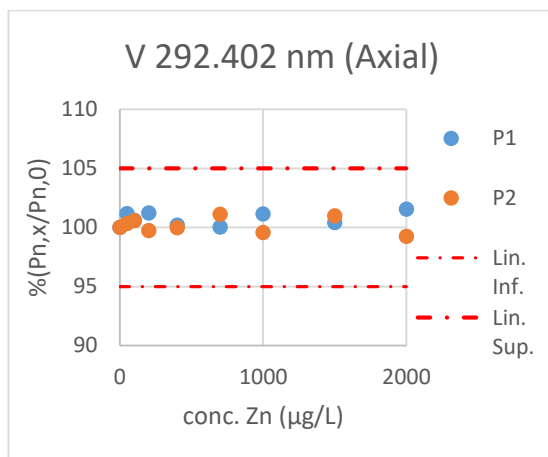
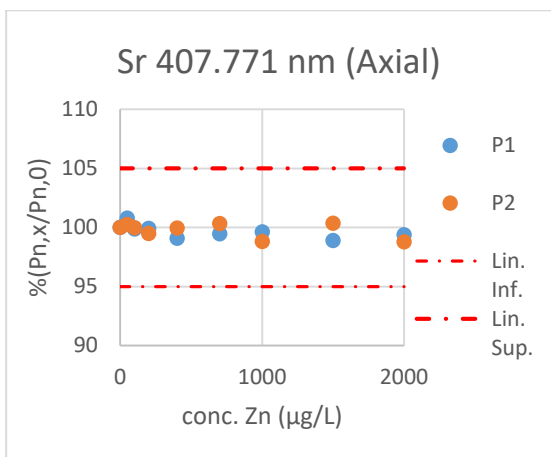
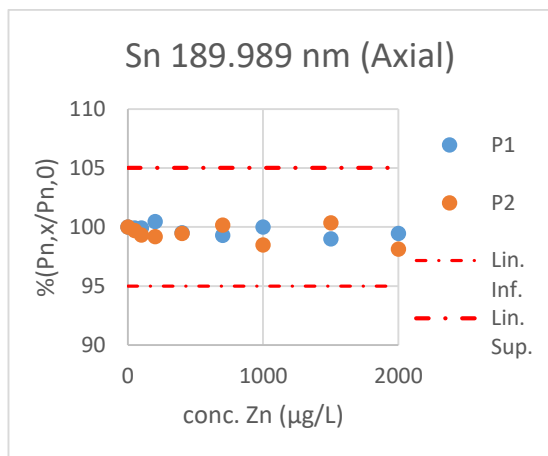
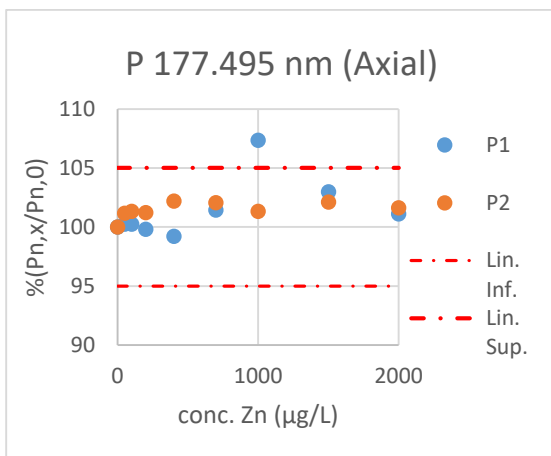
Zinco (2000 µg/L)





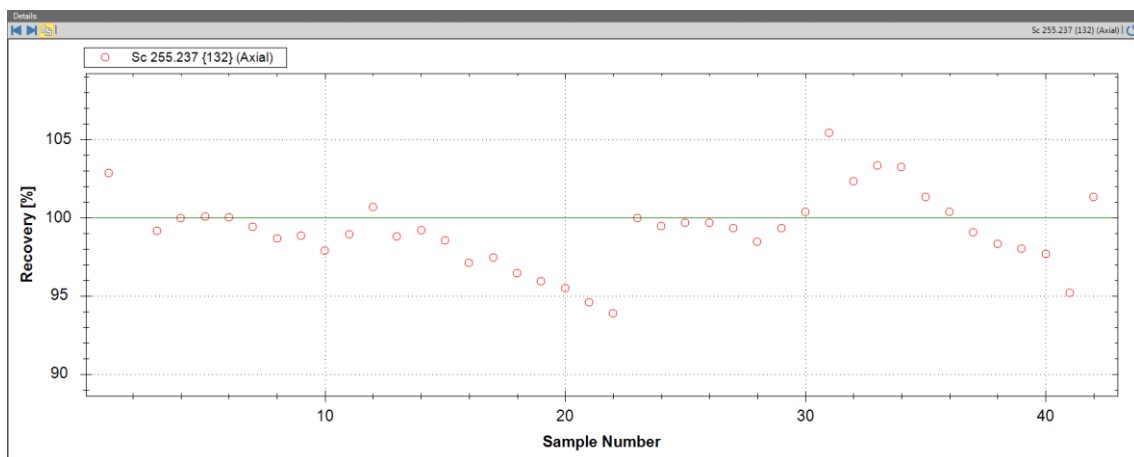
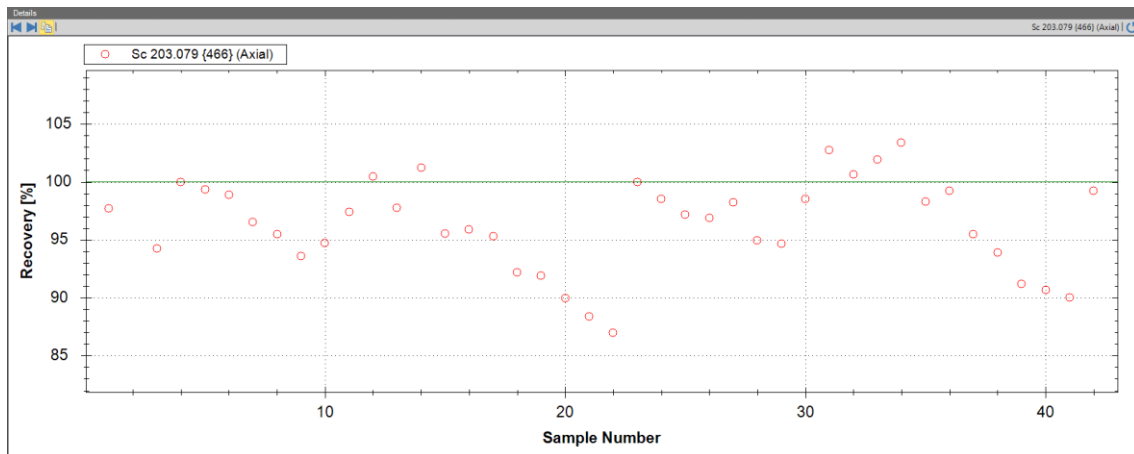
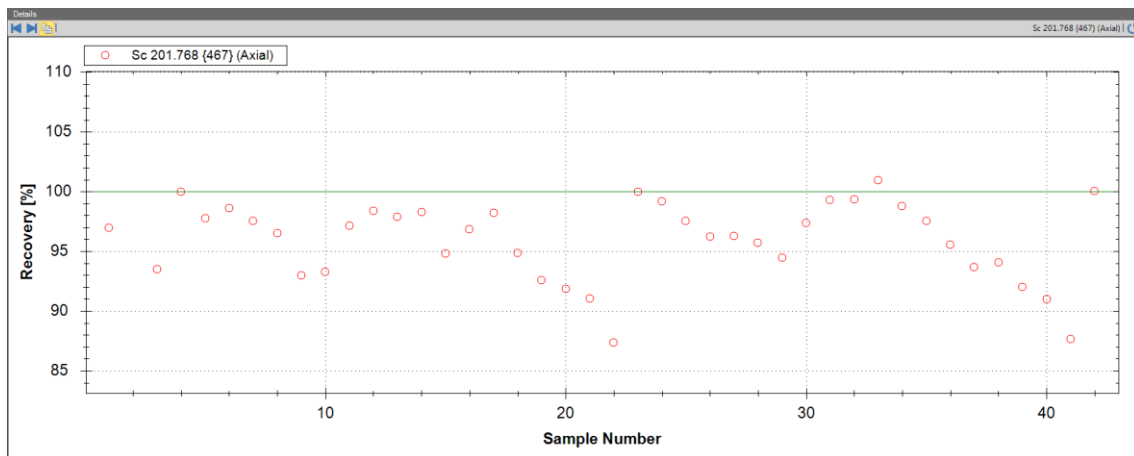


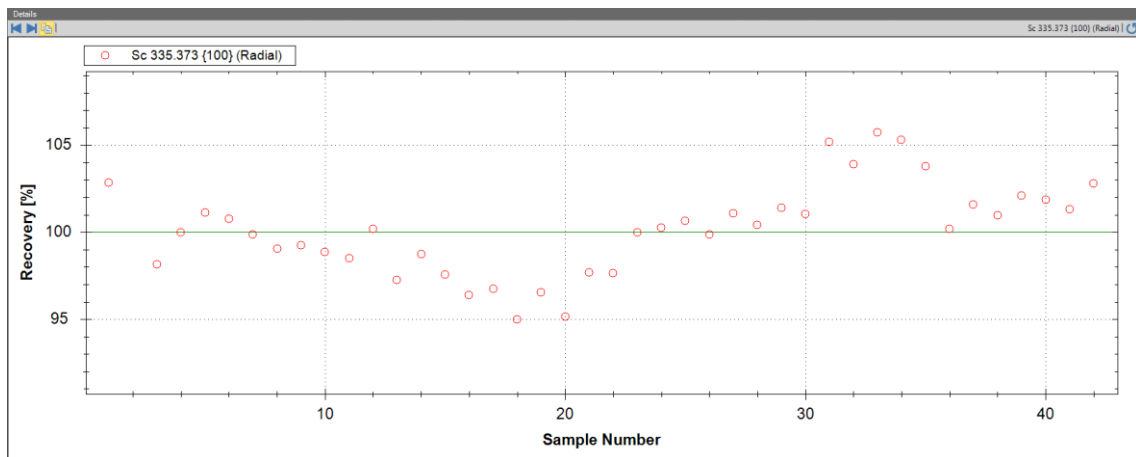
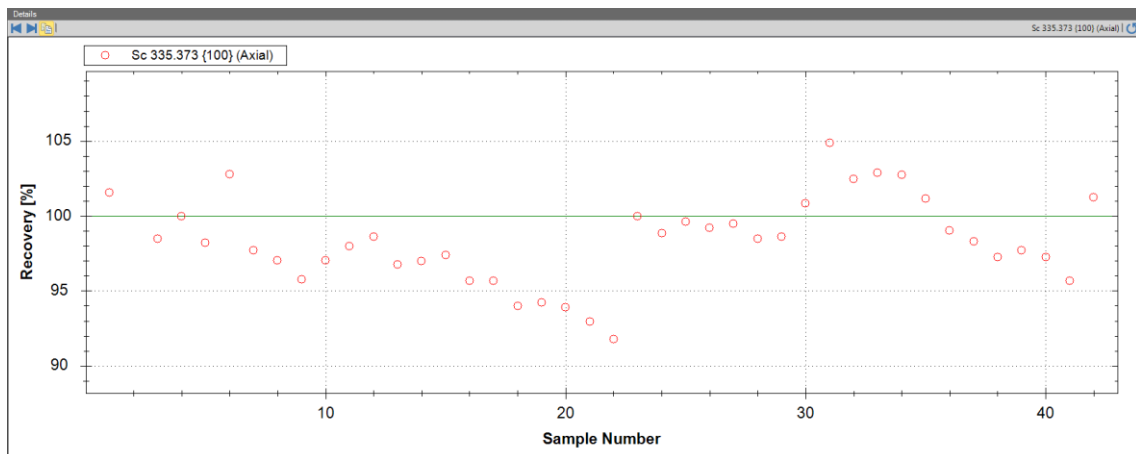
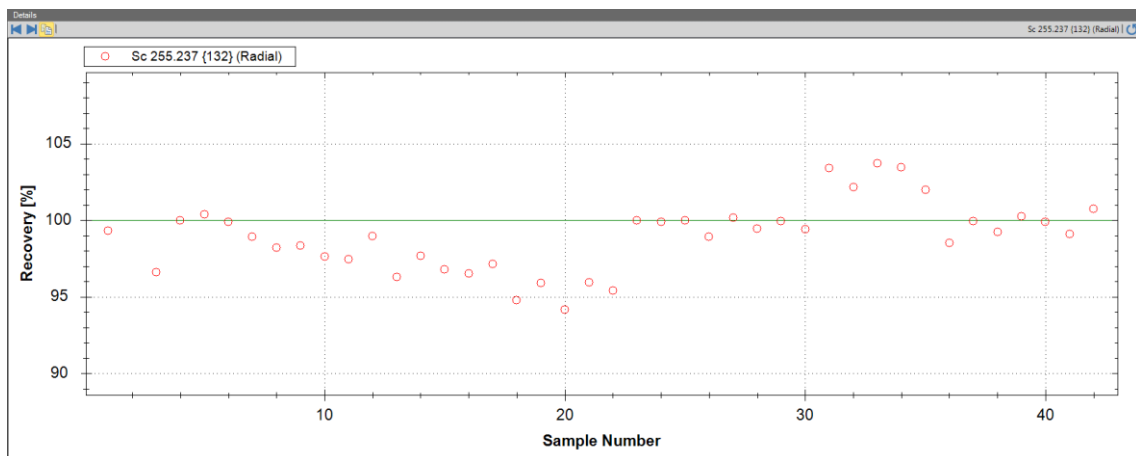




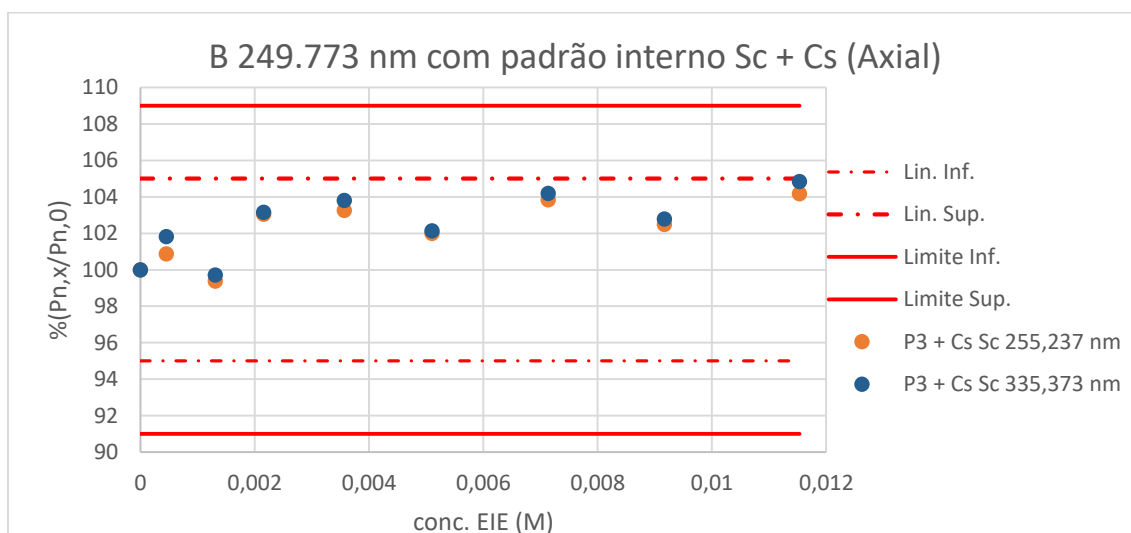
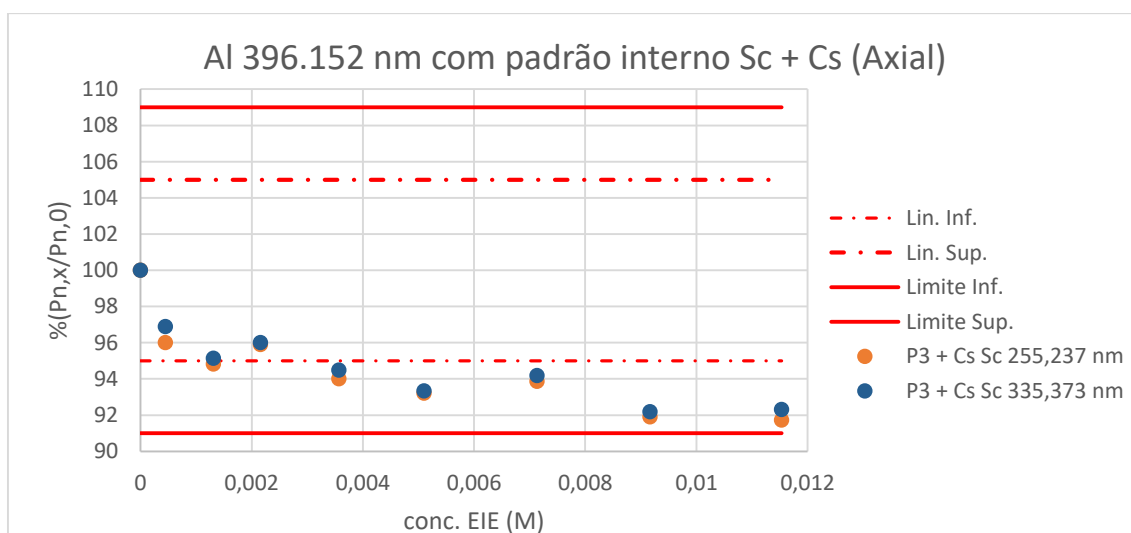
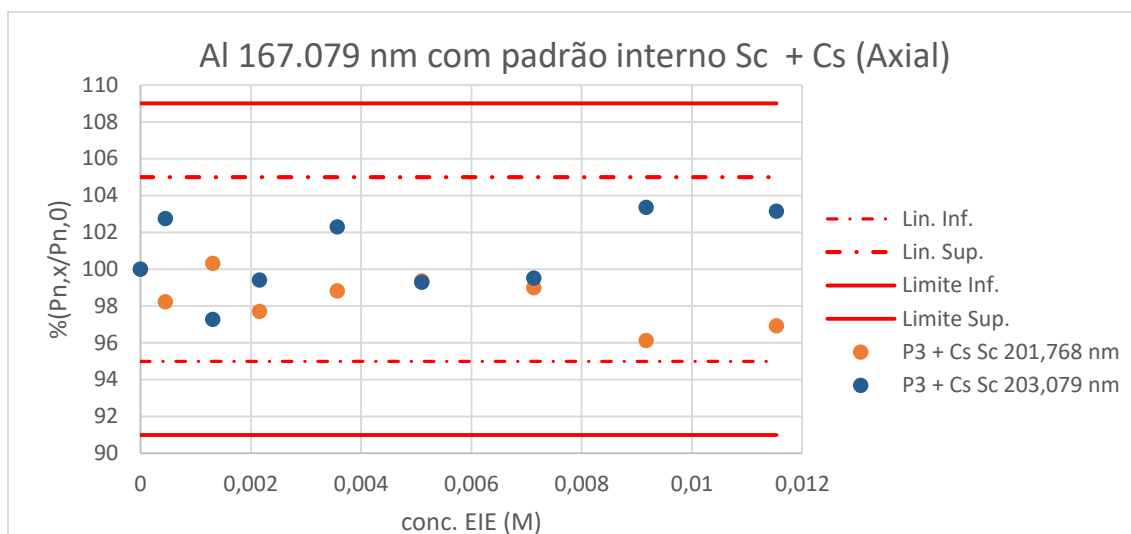
Anexo V - Estudo de padrão interno e supressor de ionização

Variação do padrão interno com a adição de EIE

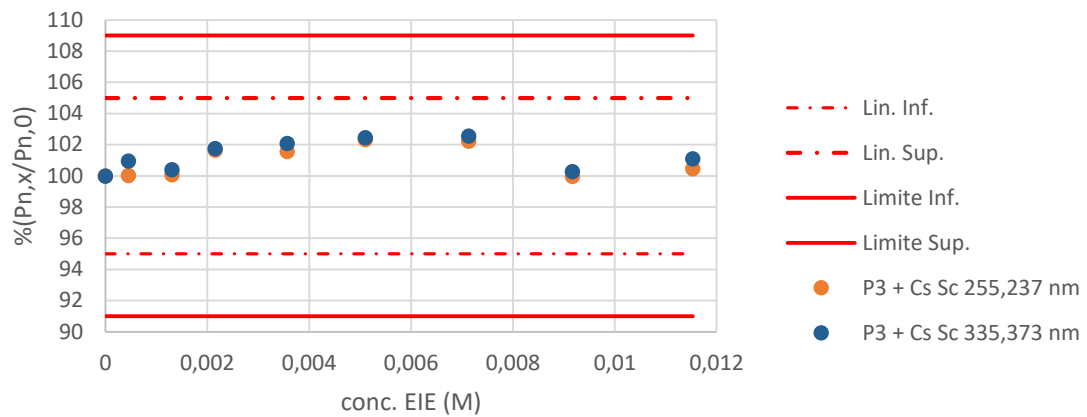




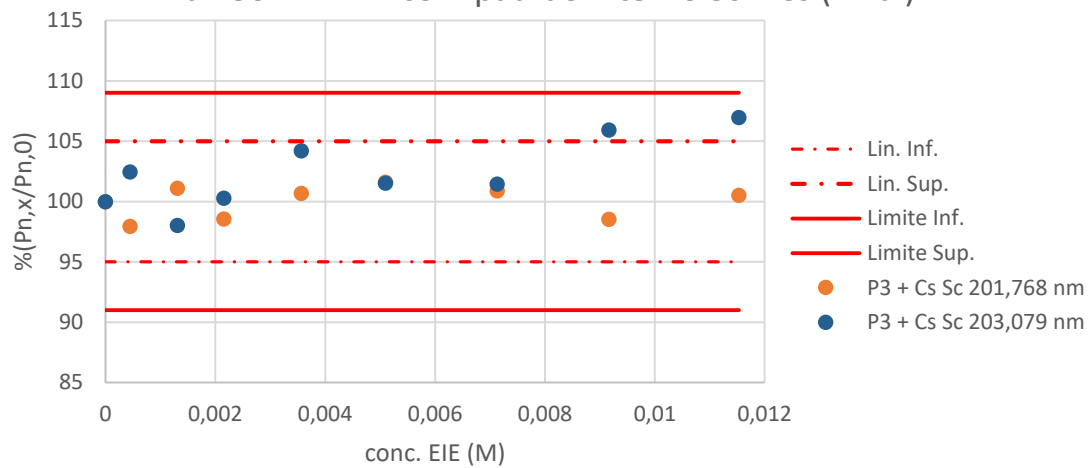
Linhas de emissão com padrão interno e supressor iônico



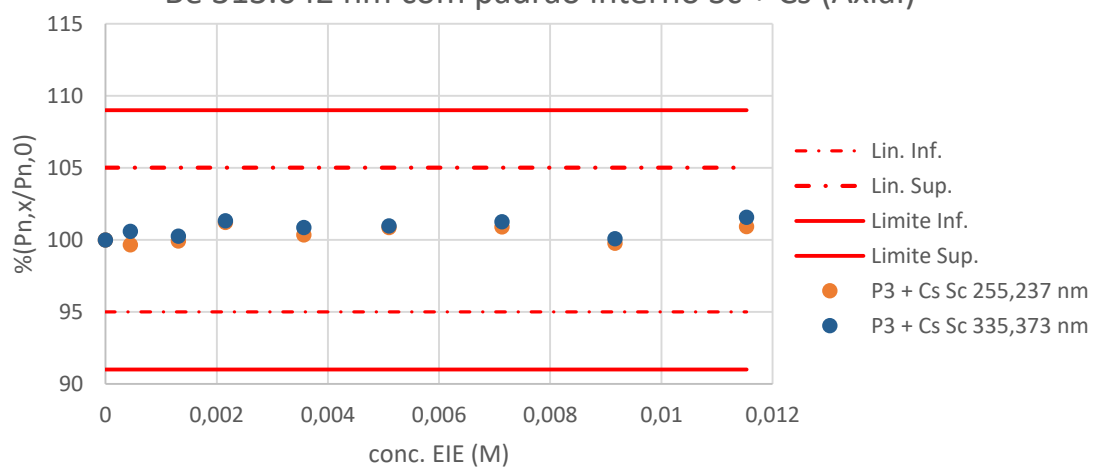
B 249.678 nm com padrão interno Sc + Cs (Axial)

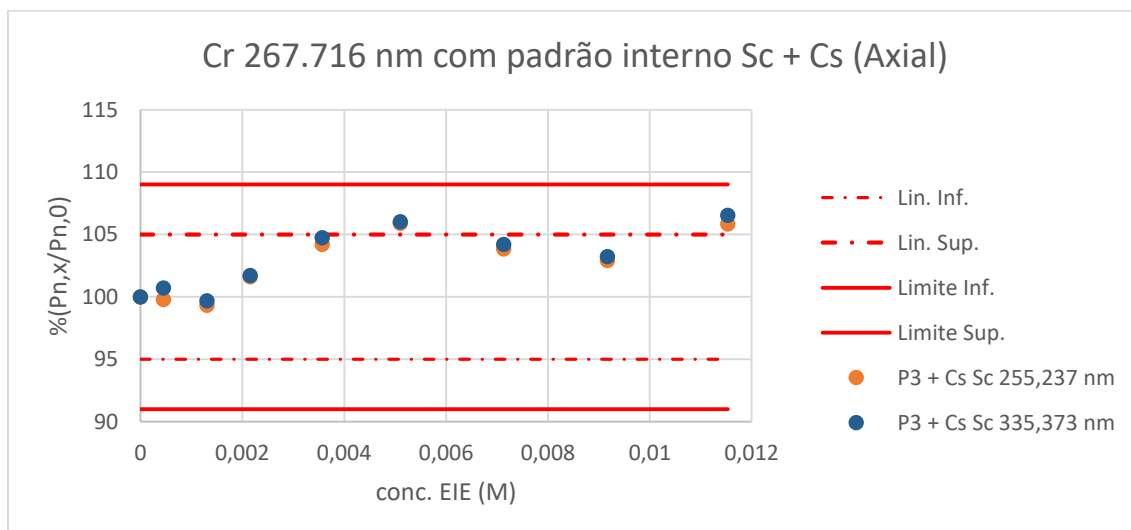
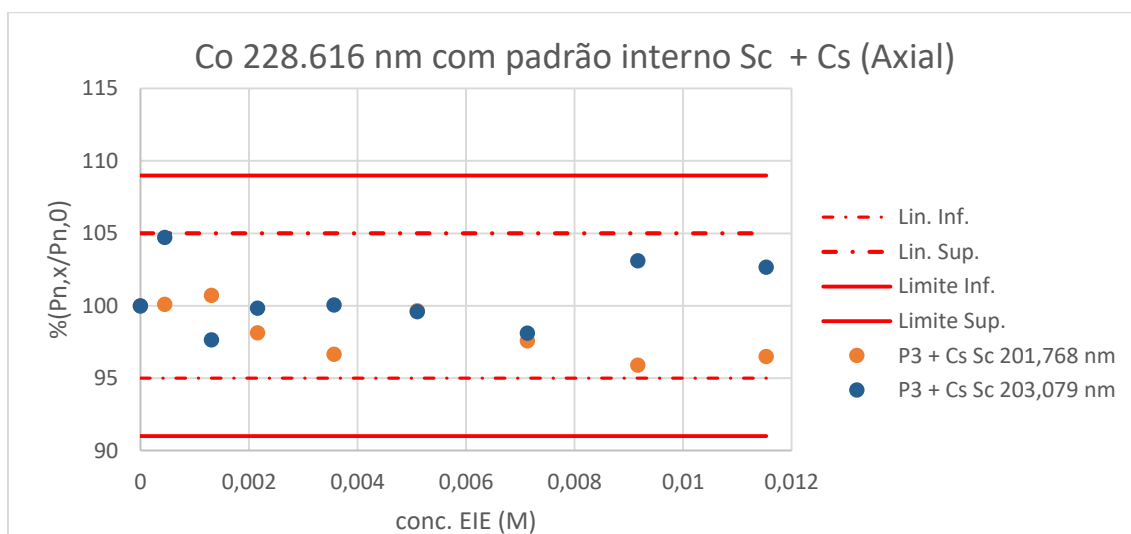
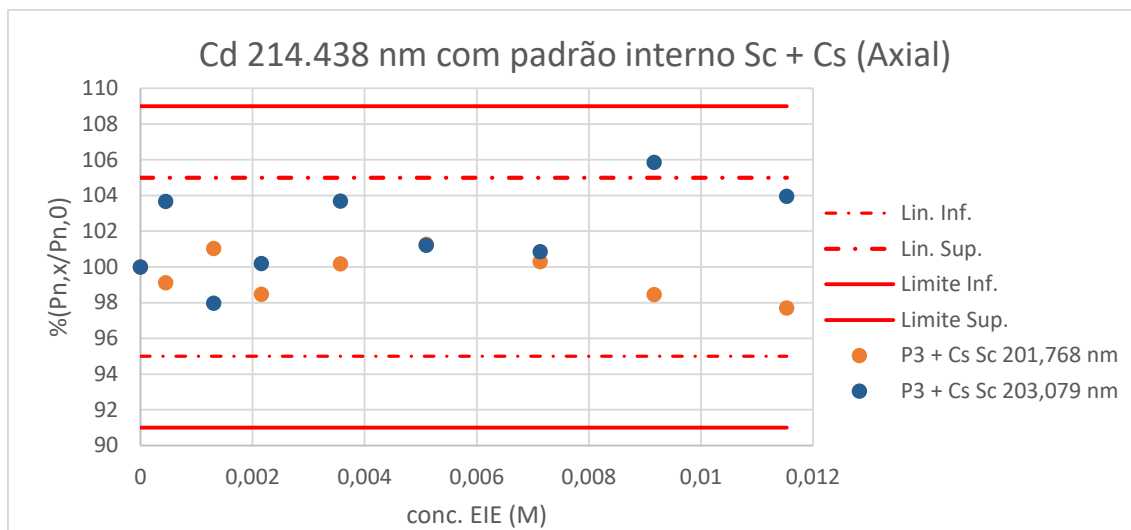


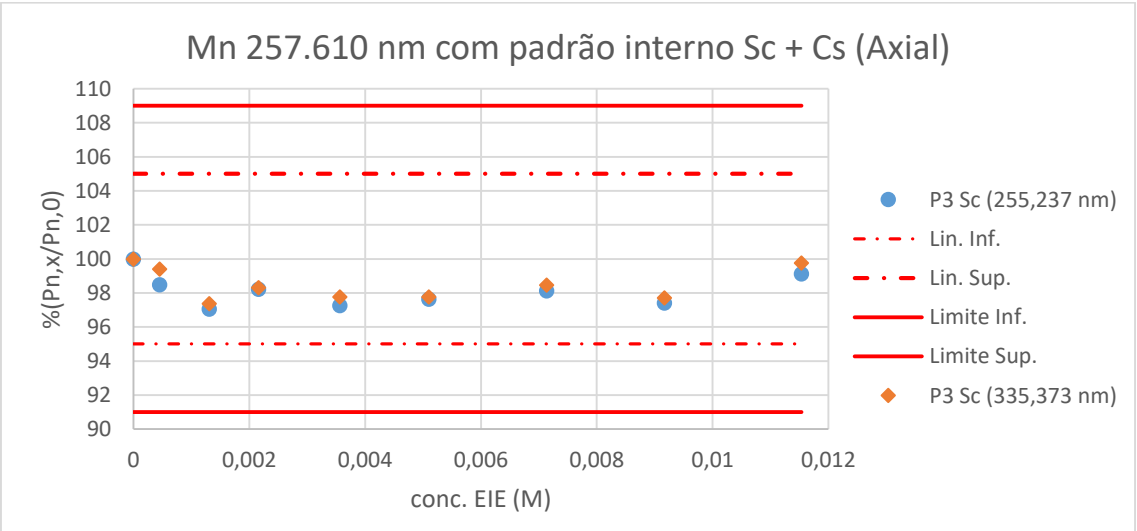
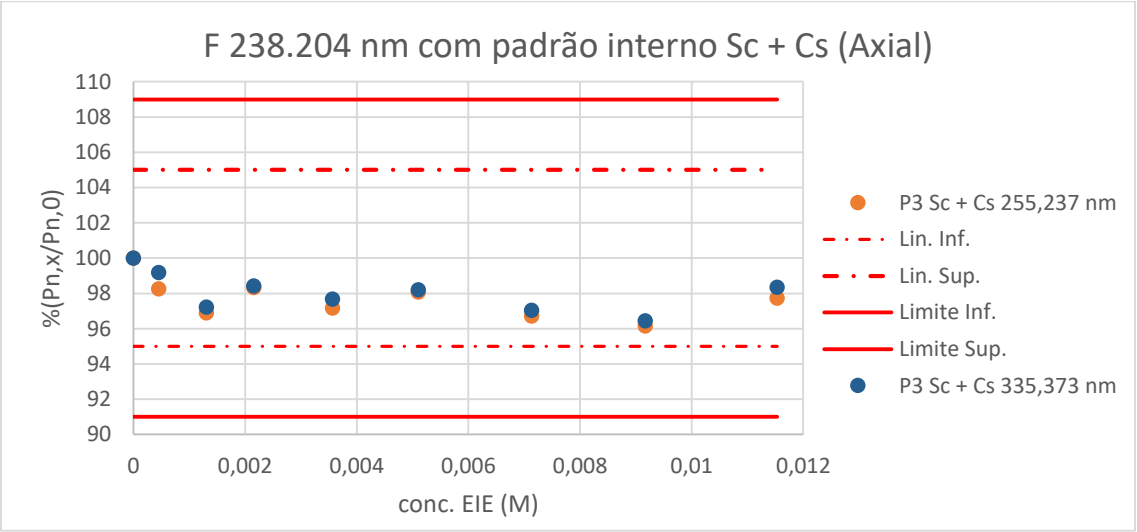
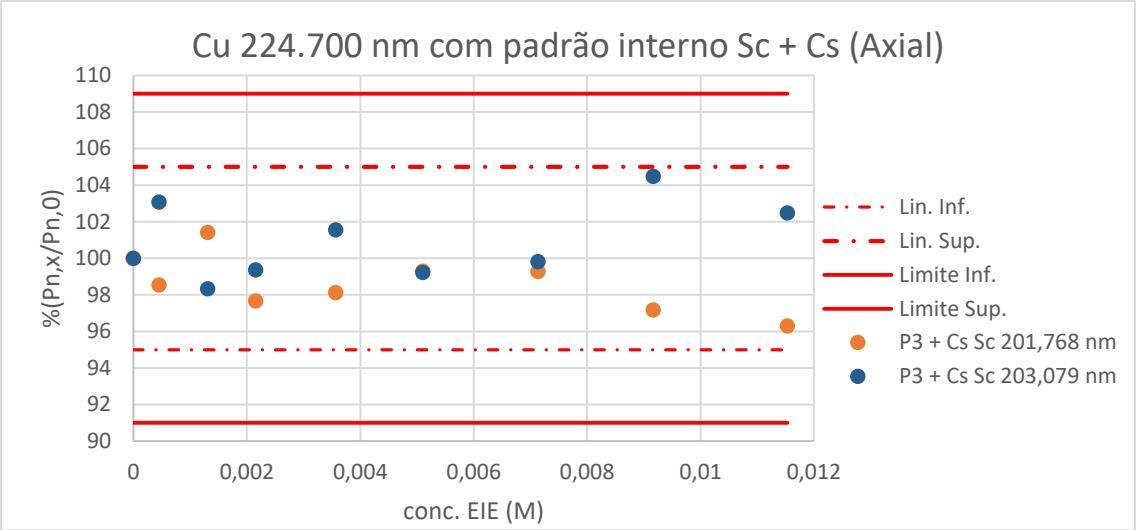
Ba 230.424 nm com padrão interno Sc + Cs (Axial)

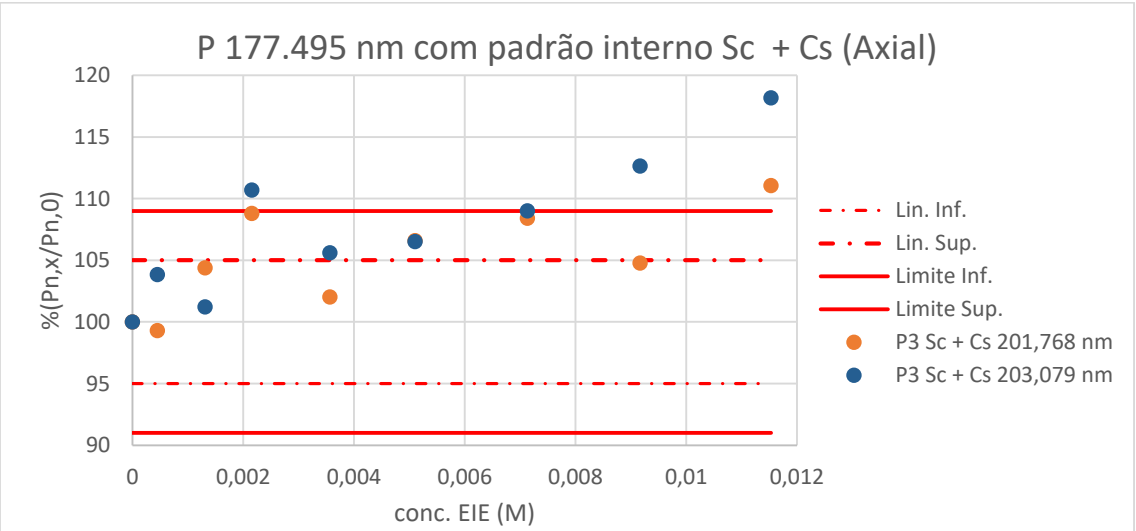
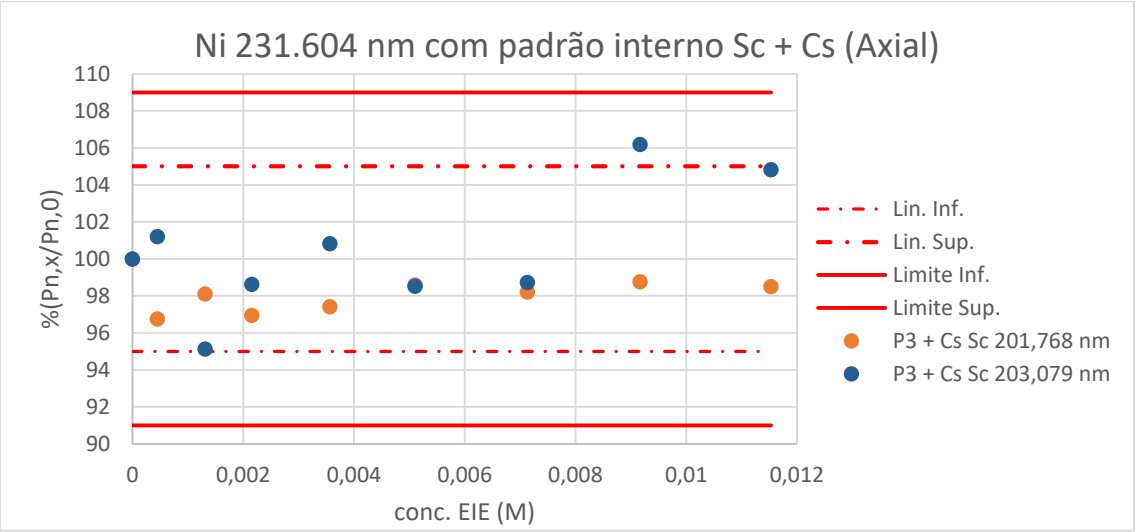
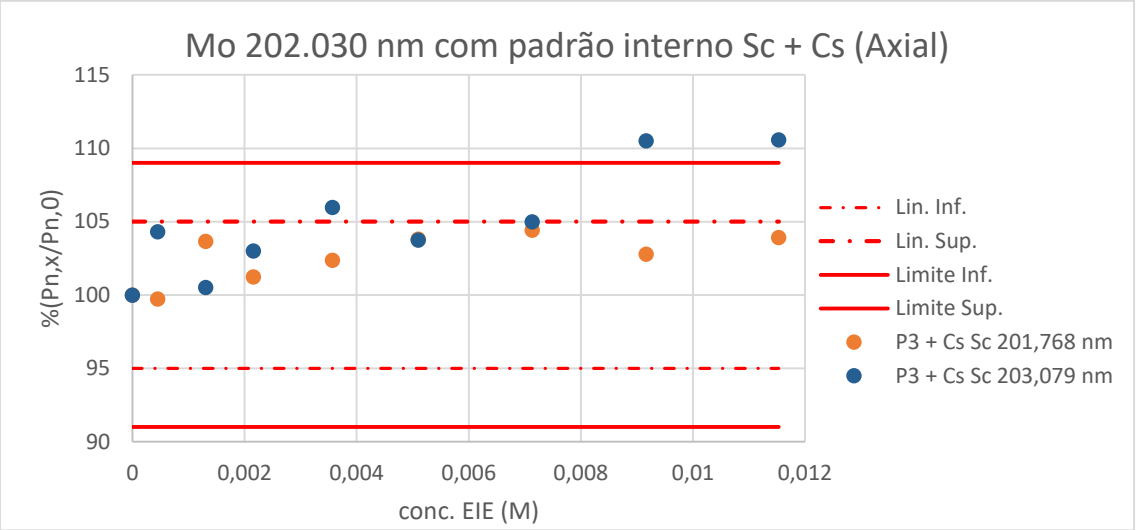


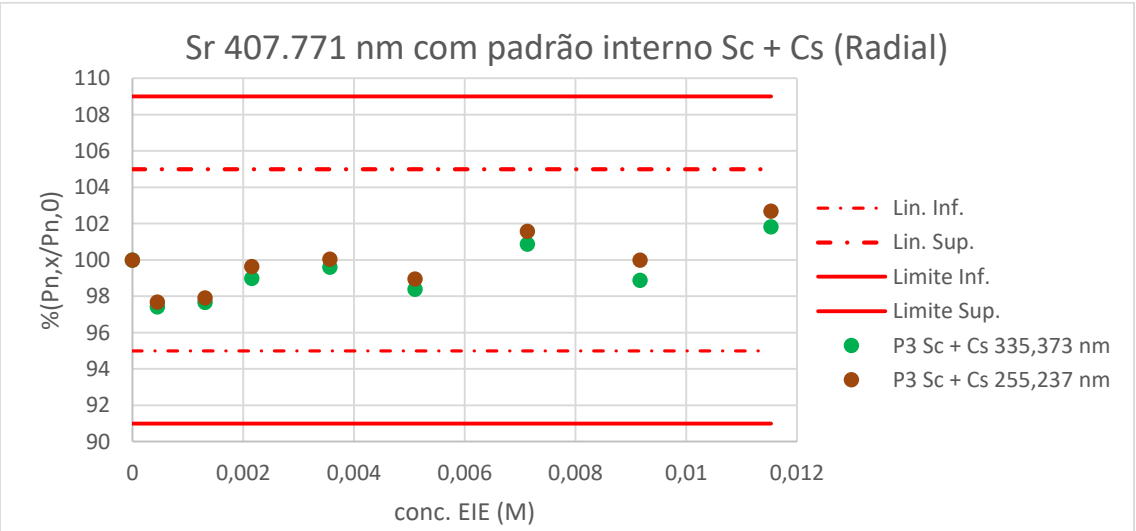
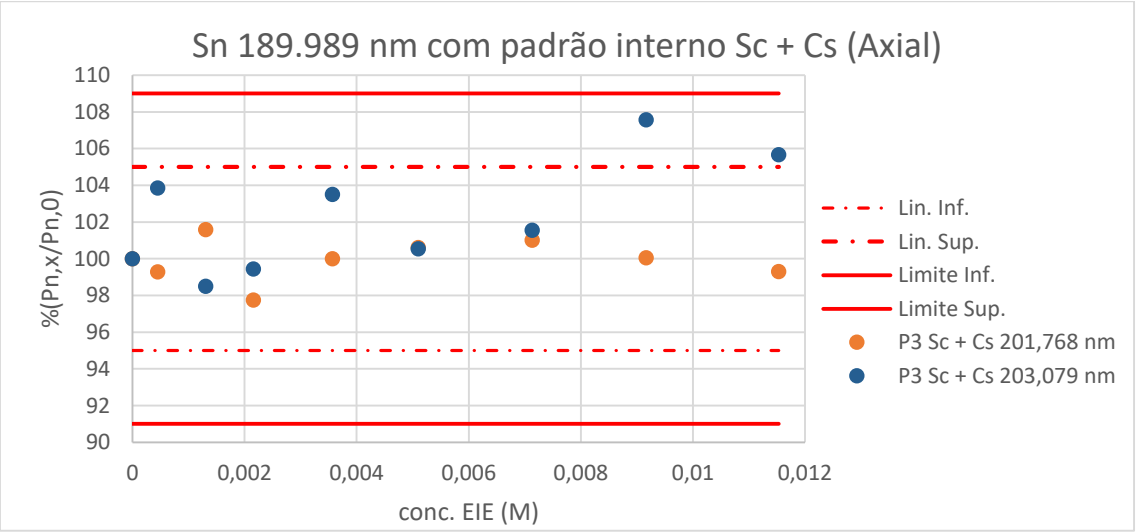
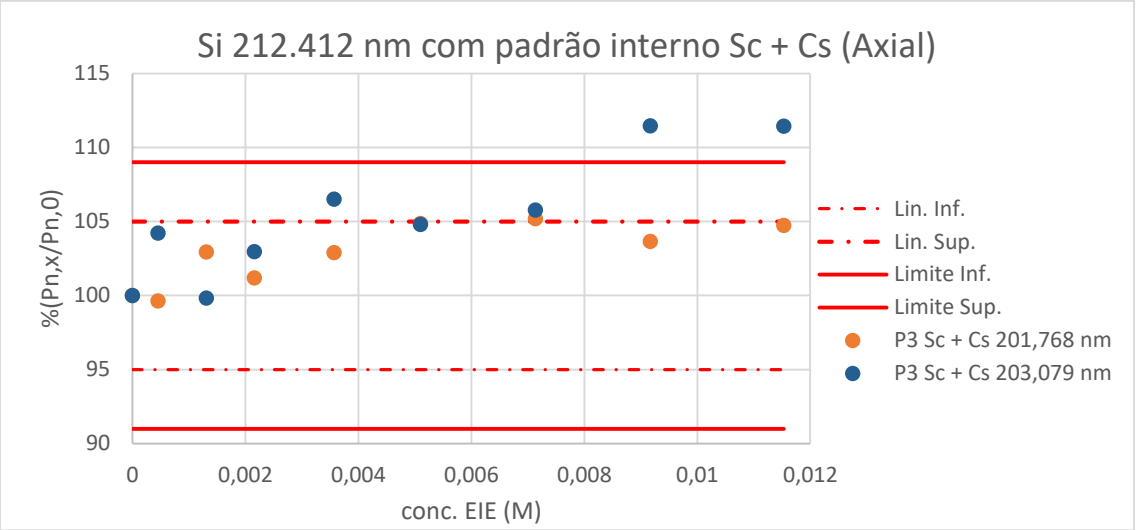
Be 313.042 nm com padrão interno Sc + Cs (Axial)

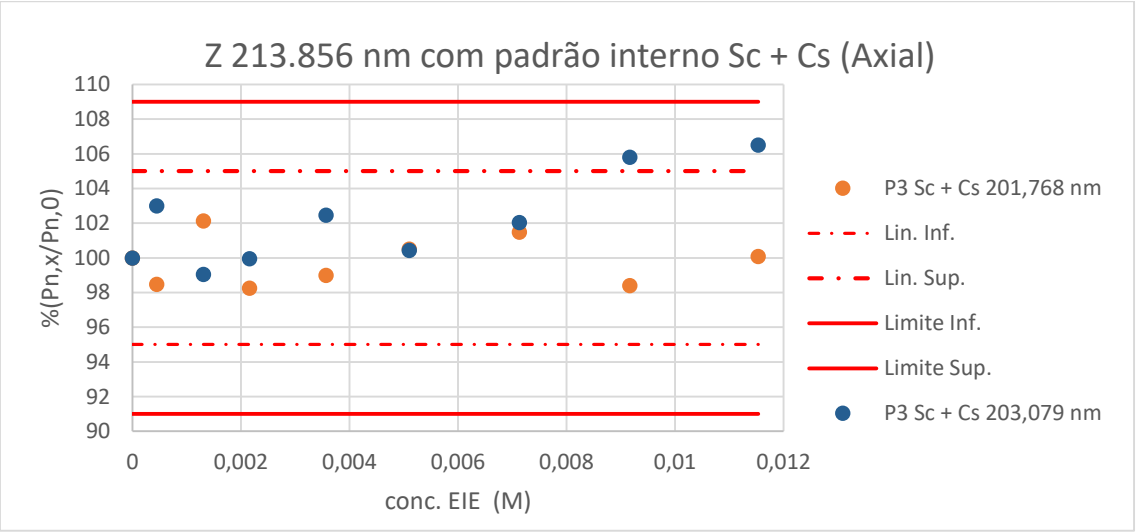
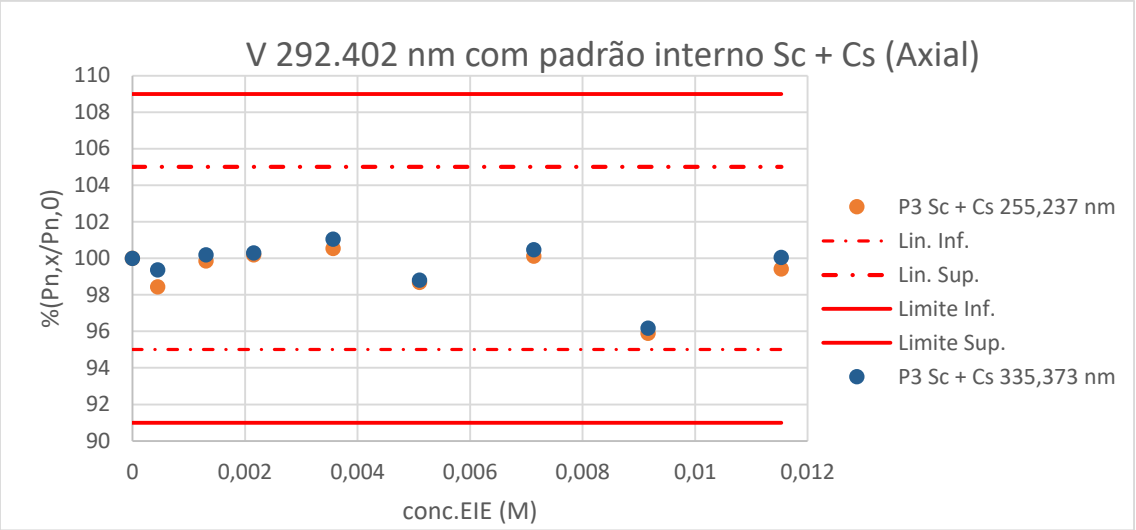




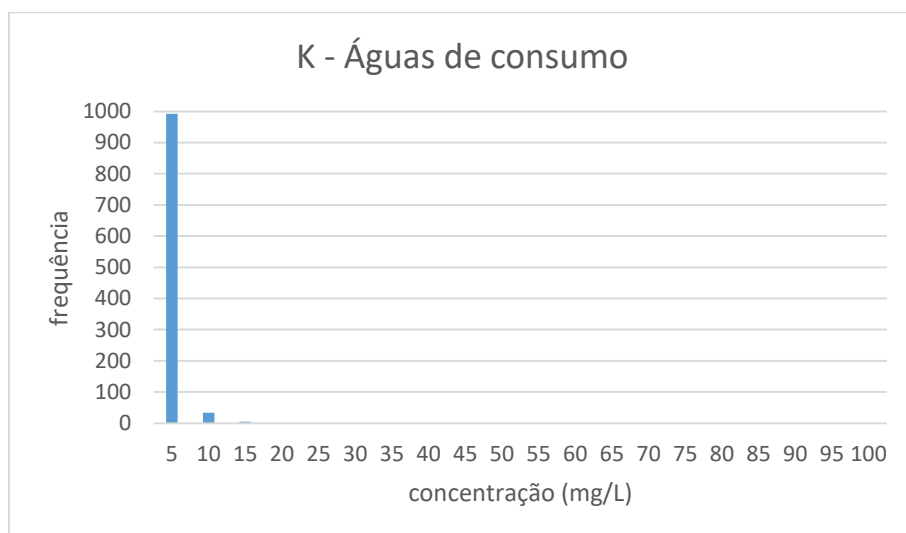
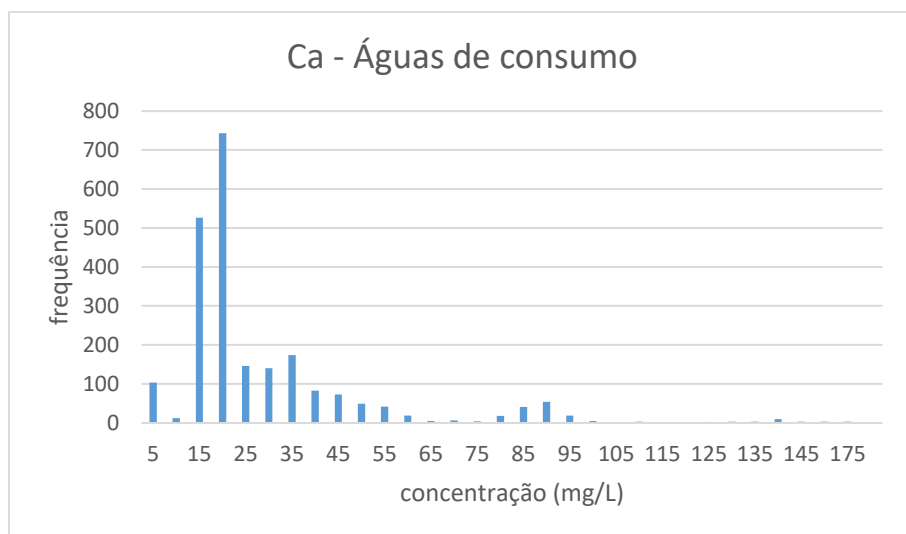


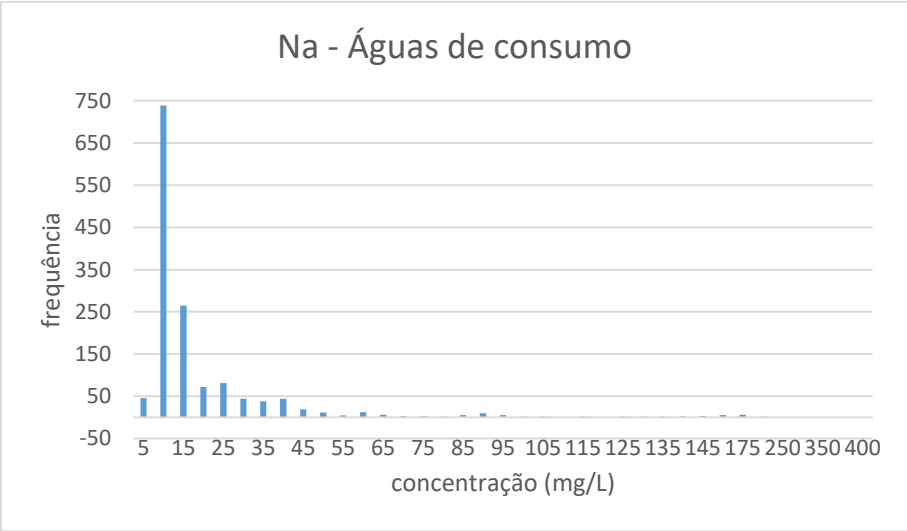
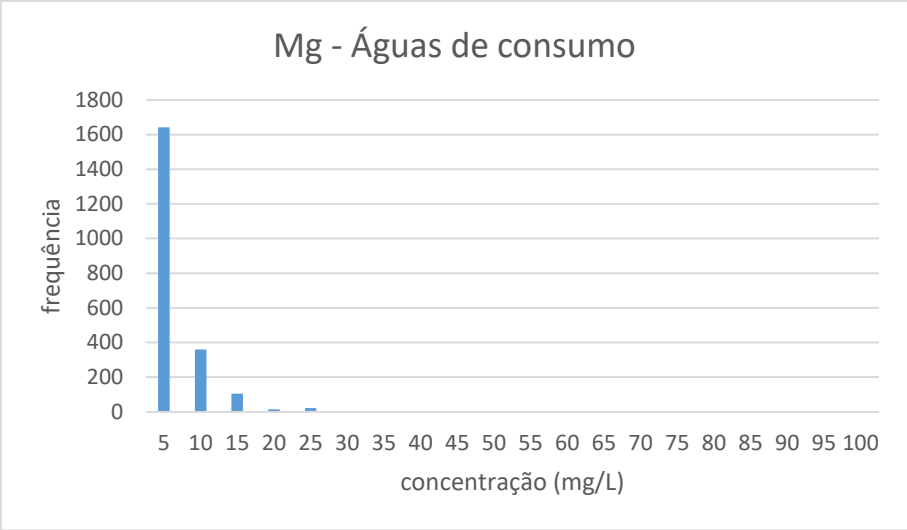




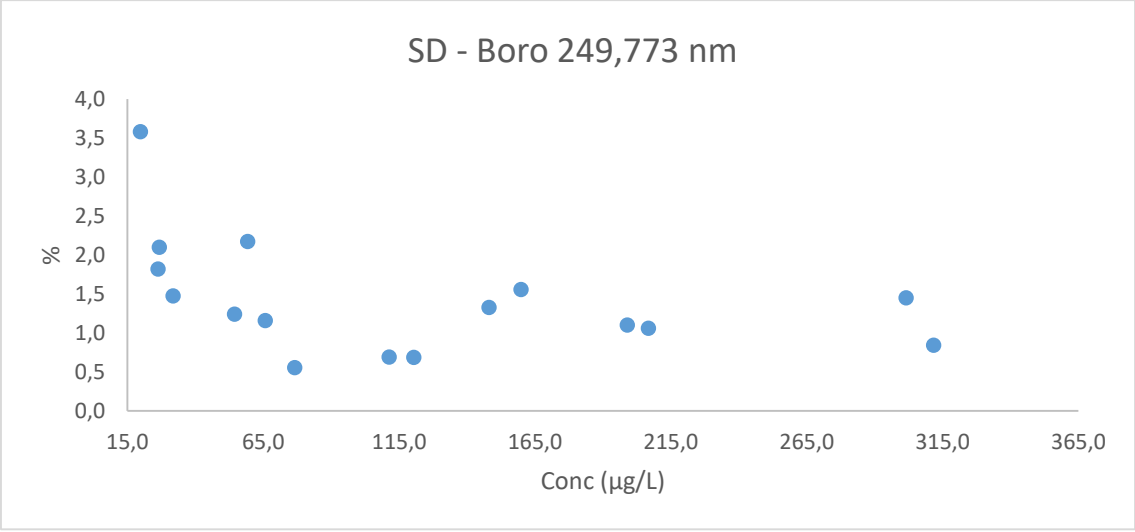
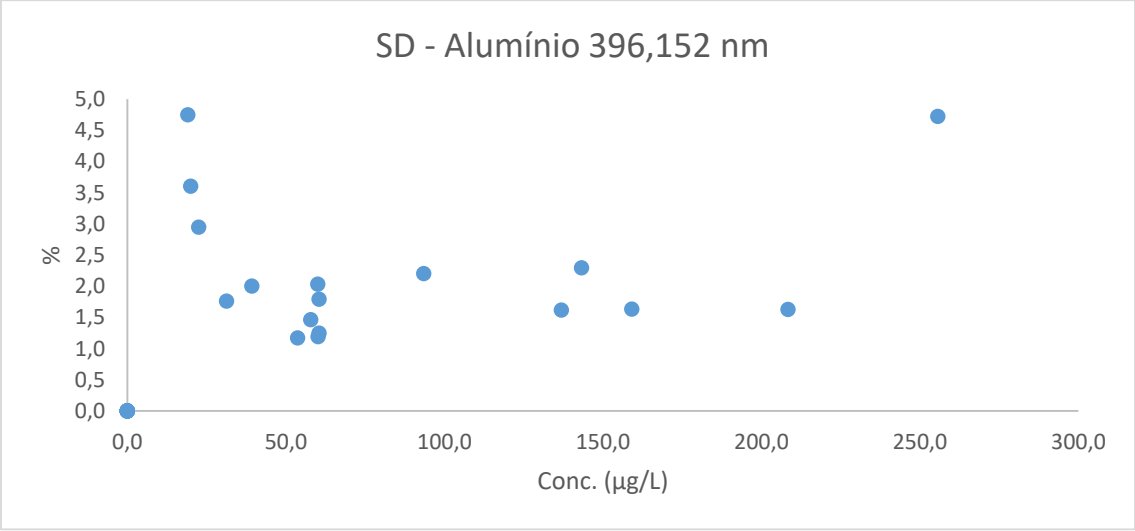
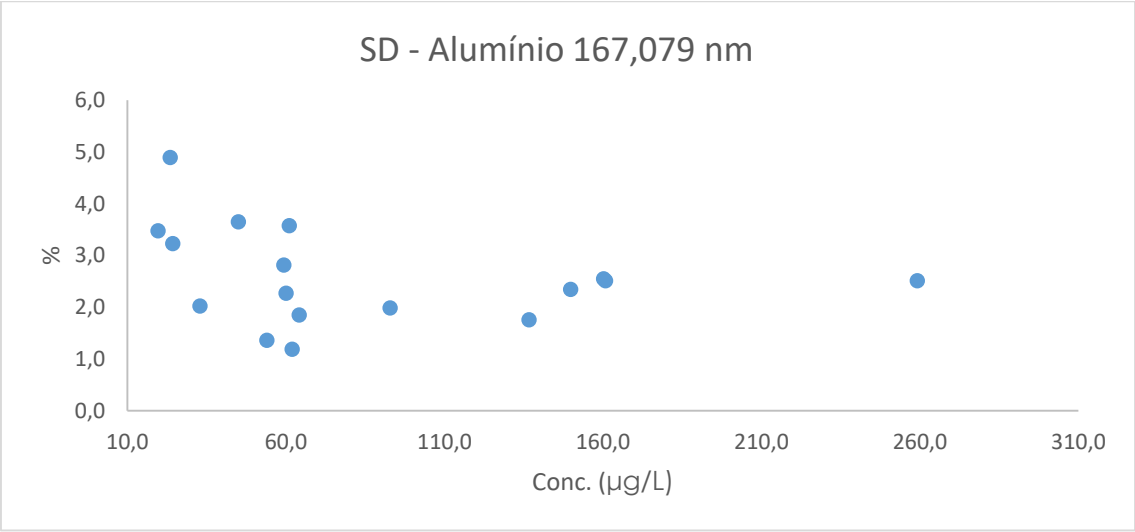


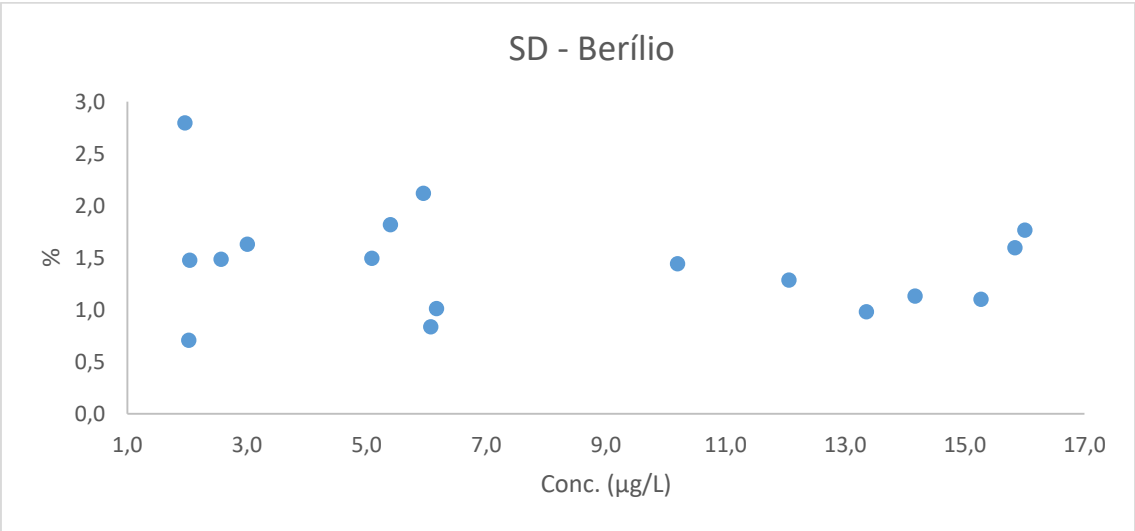
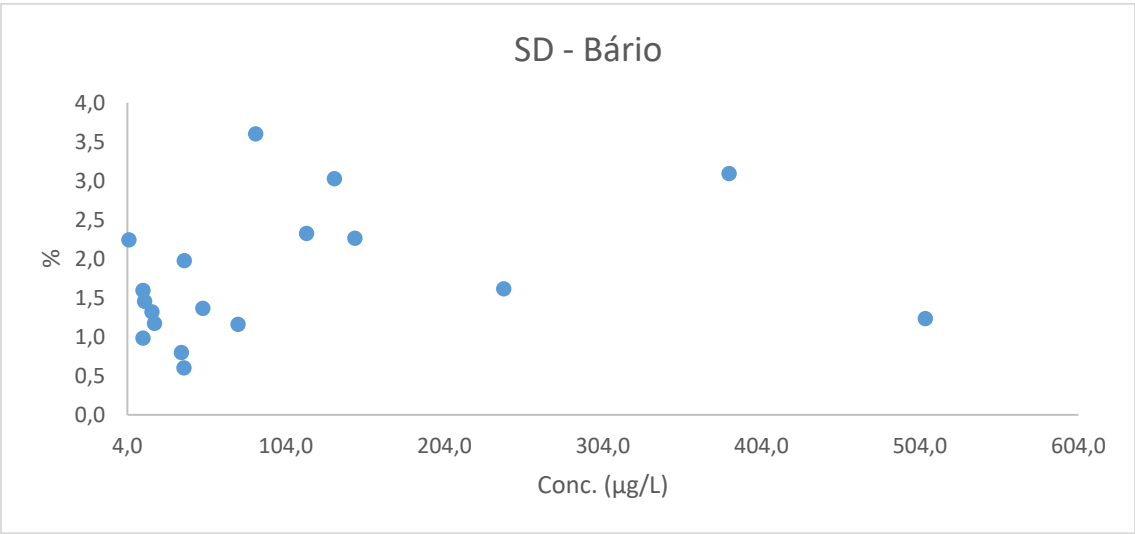
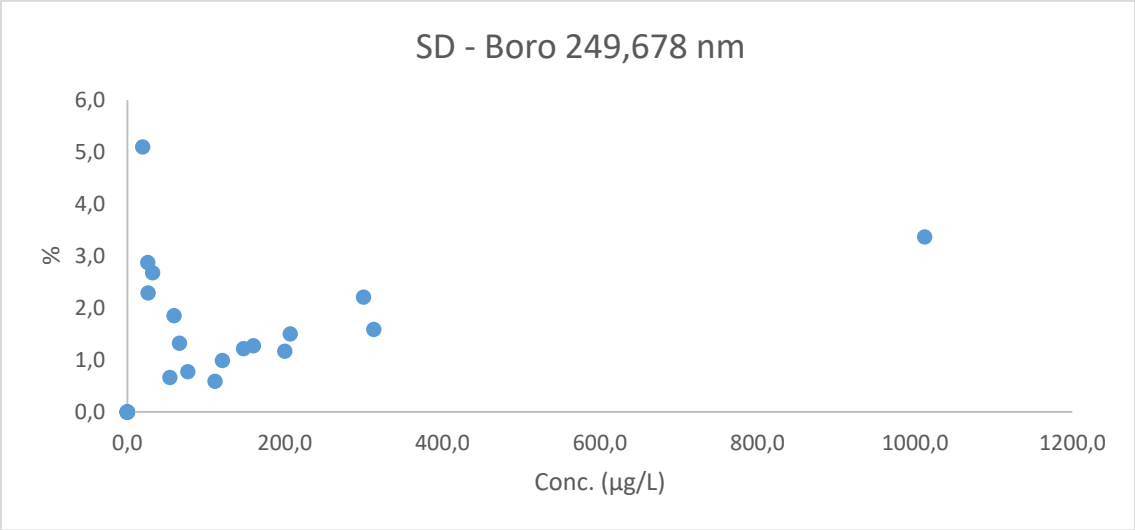
Anexo VI – Distribuição de valores de Ca, K, Mg e Na em amostras analisadas pelo laboratório em 2017

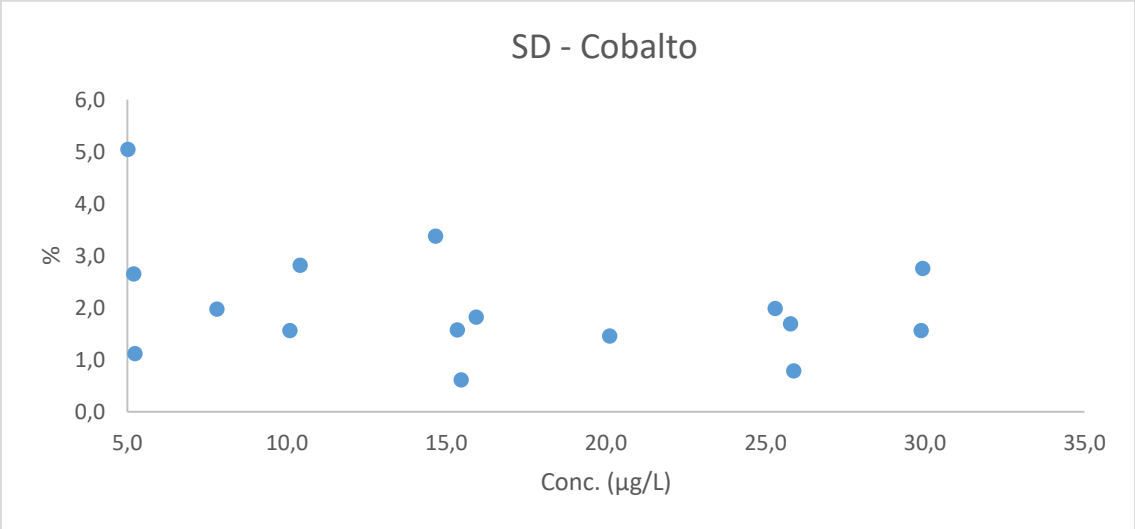
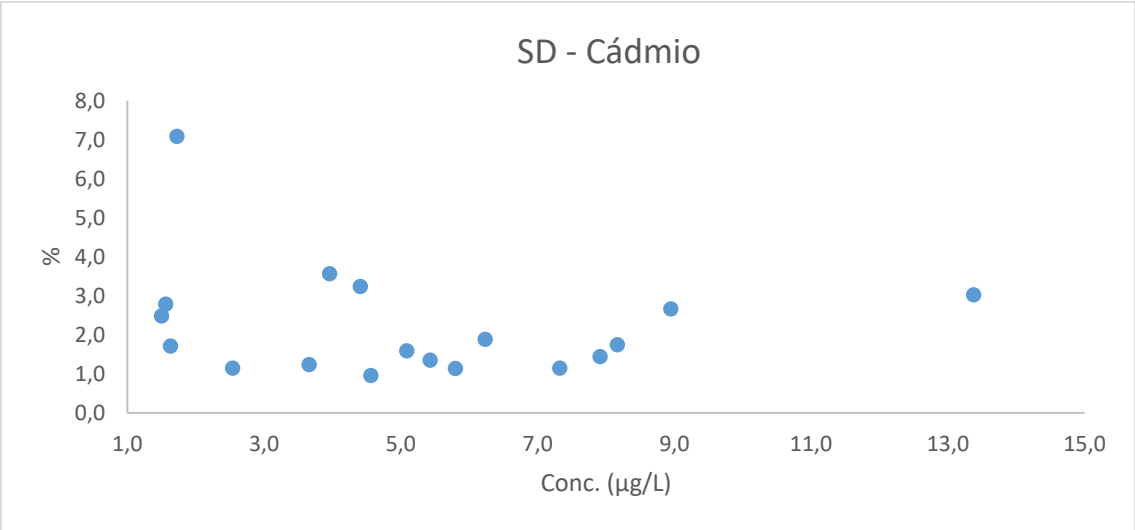
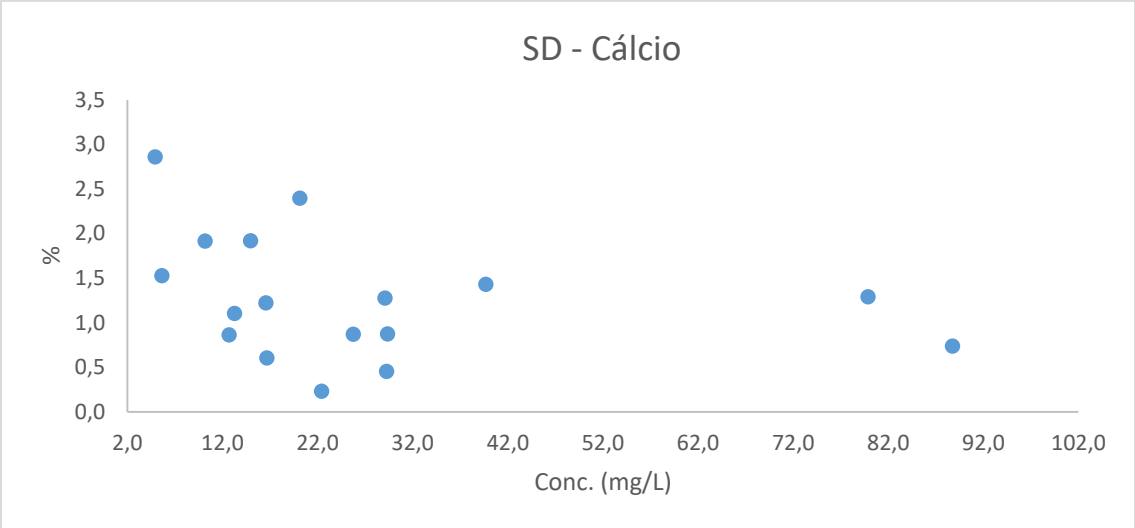


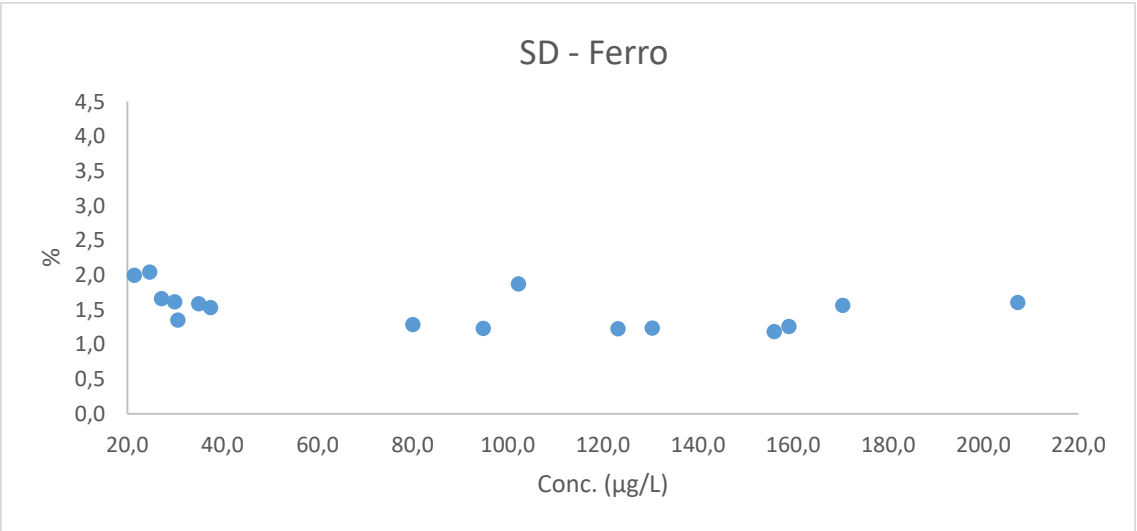
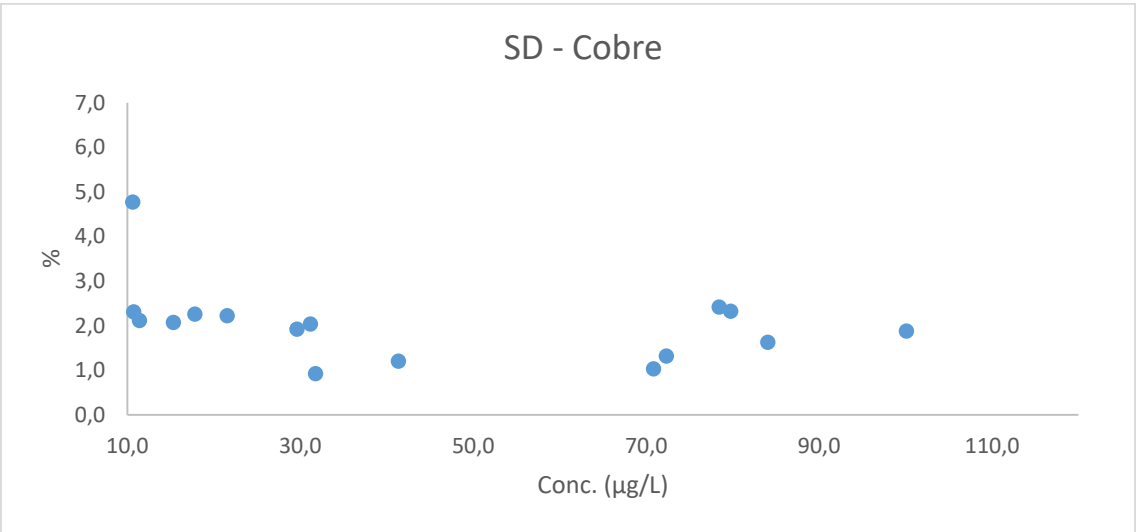
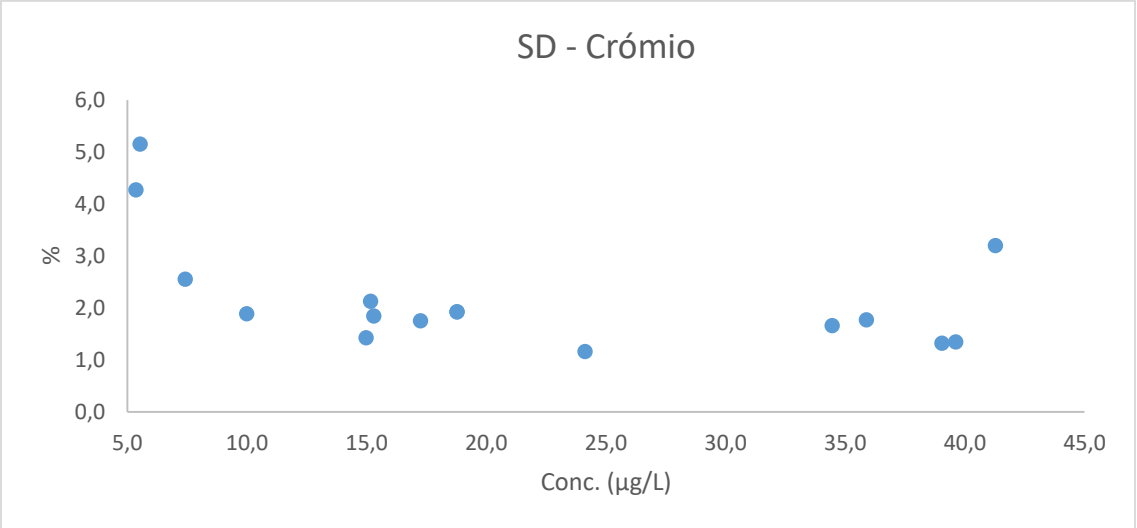


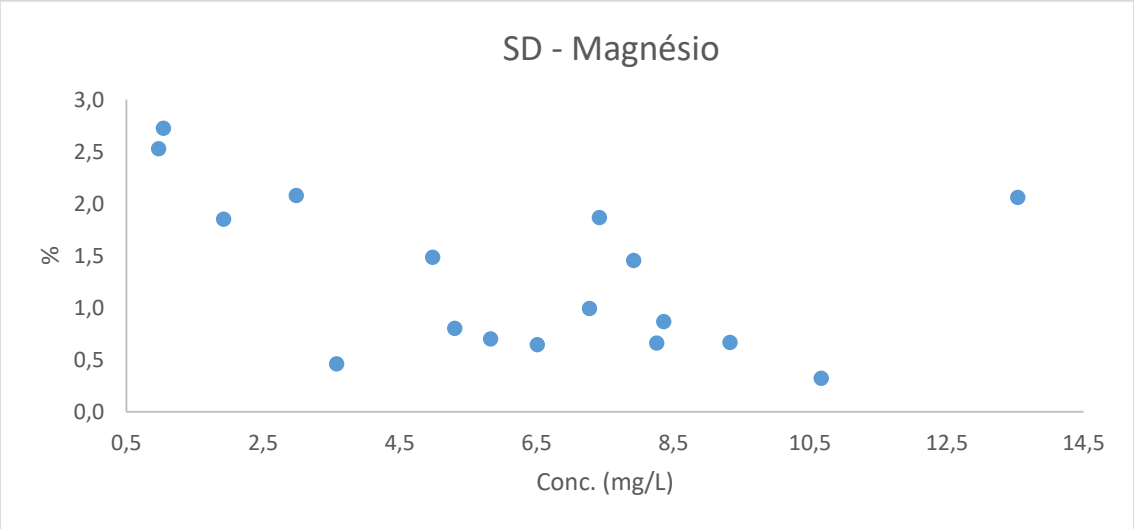
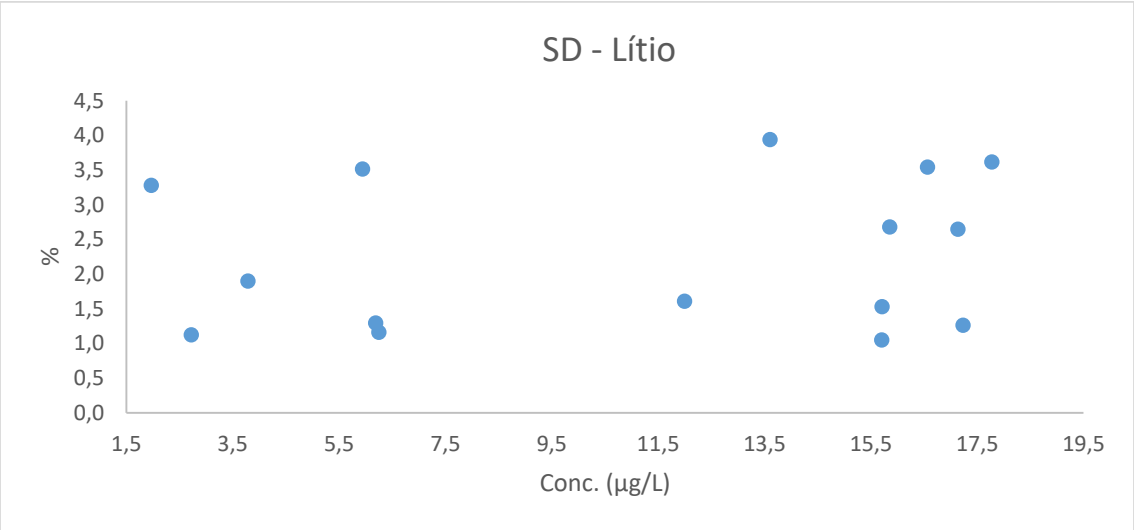
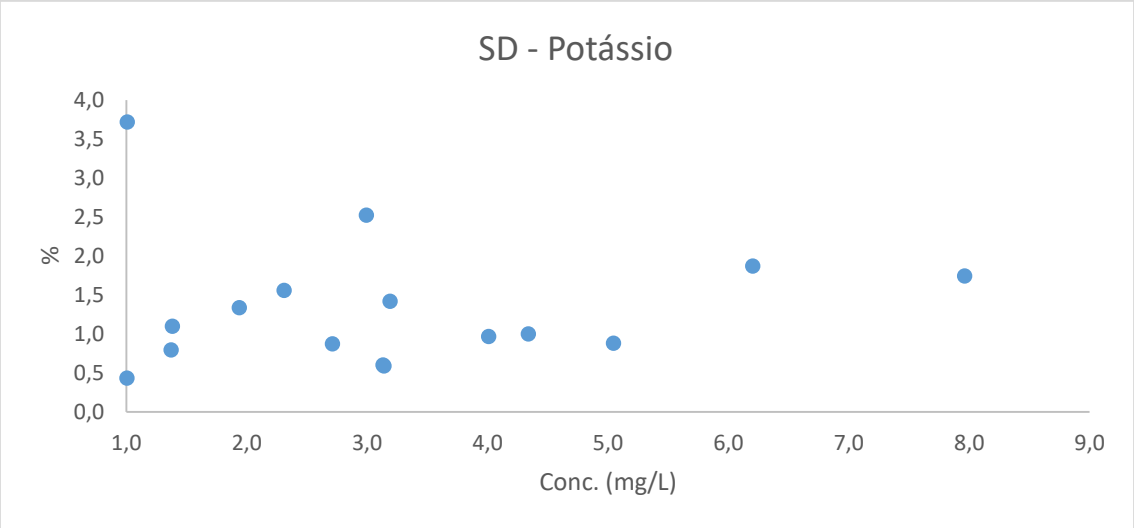
Anexo VII – Gráficos de desvio padrão dos resultados obtidos após leitura de amostras

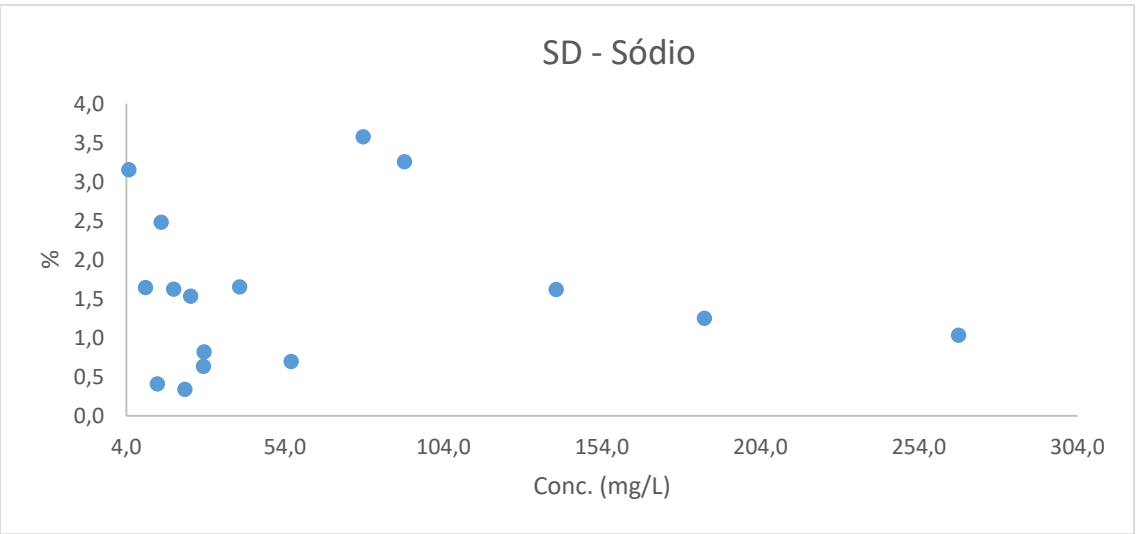
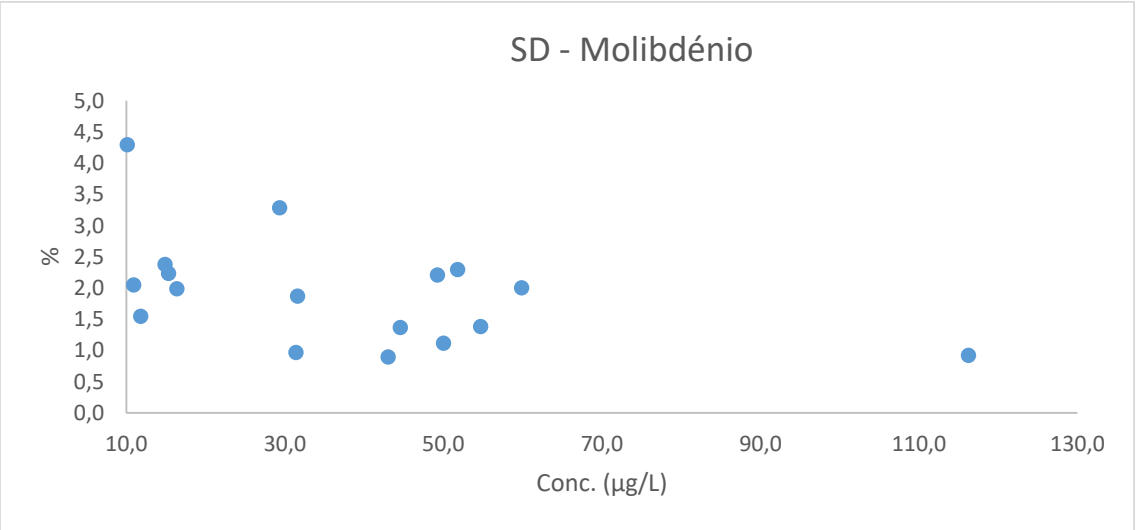
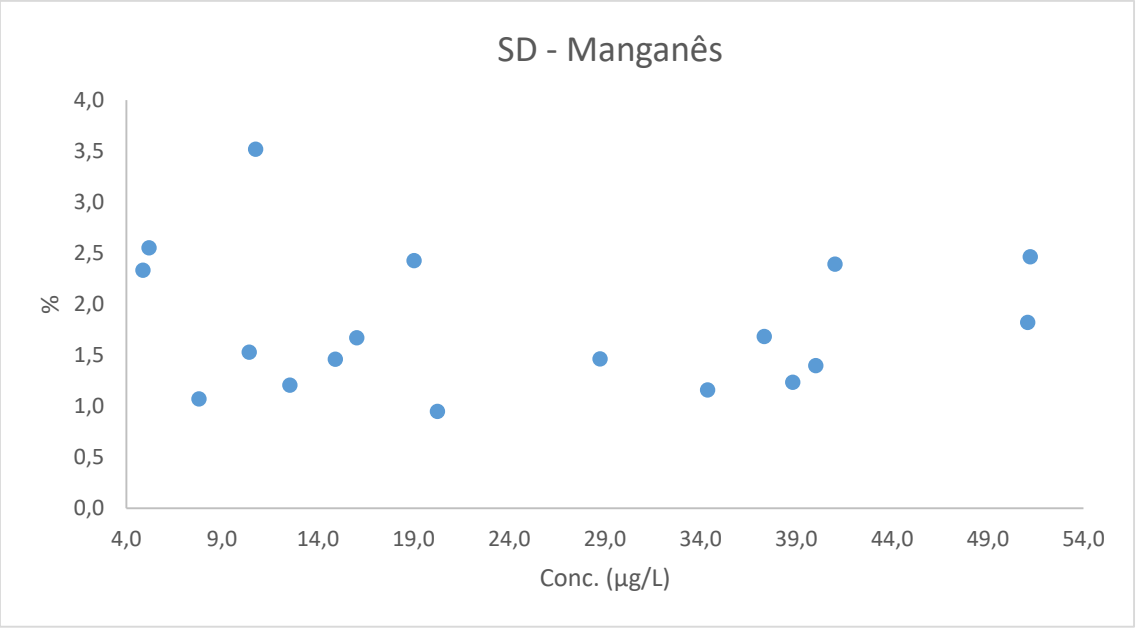


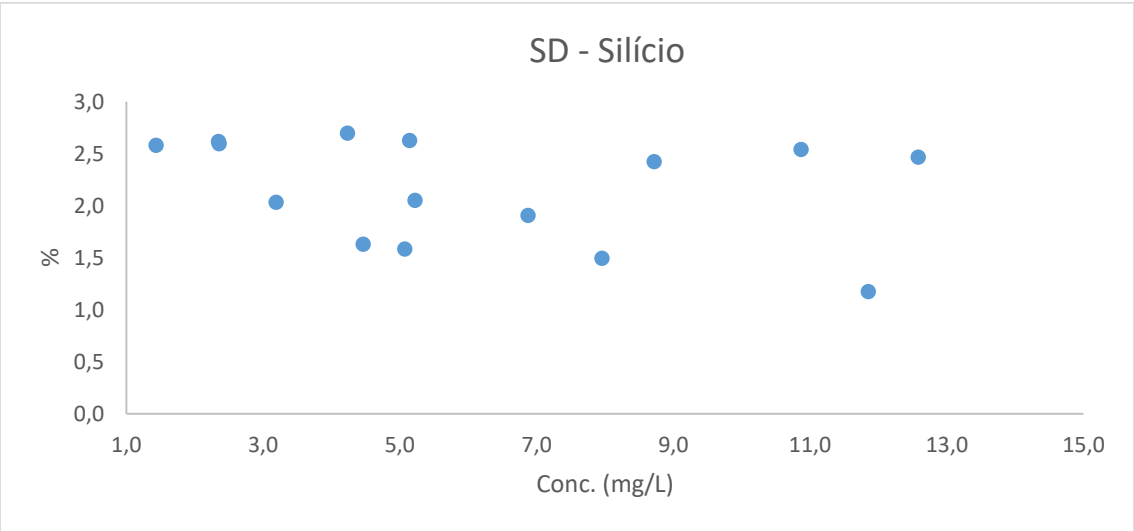
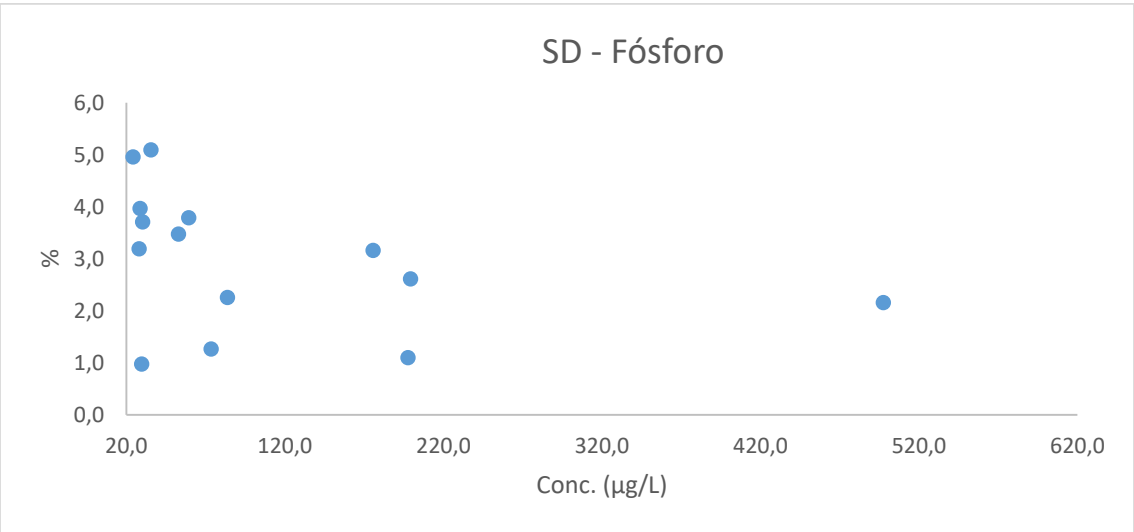
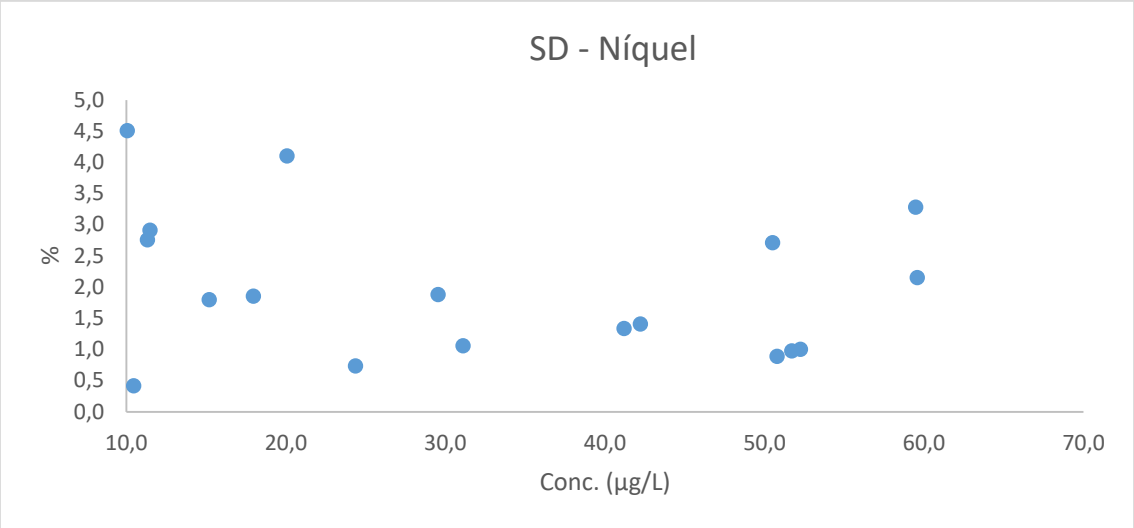


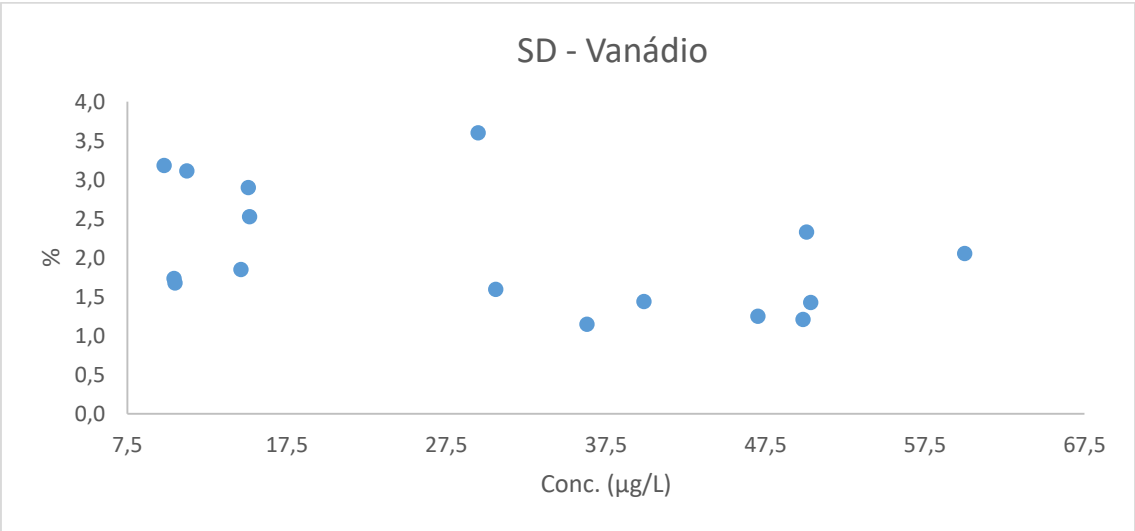
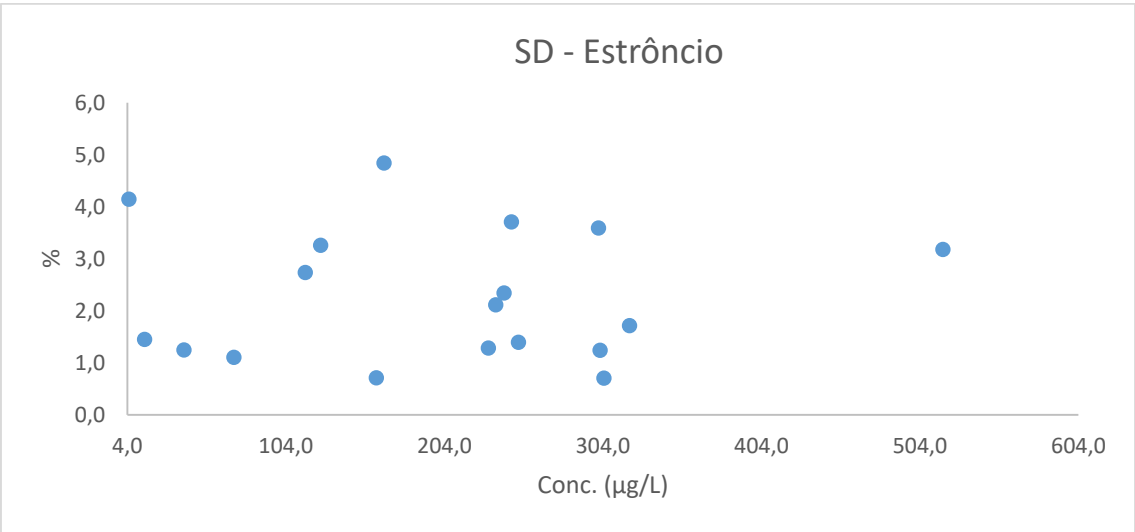
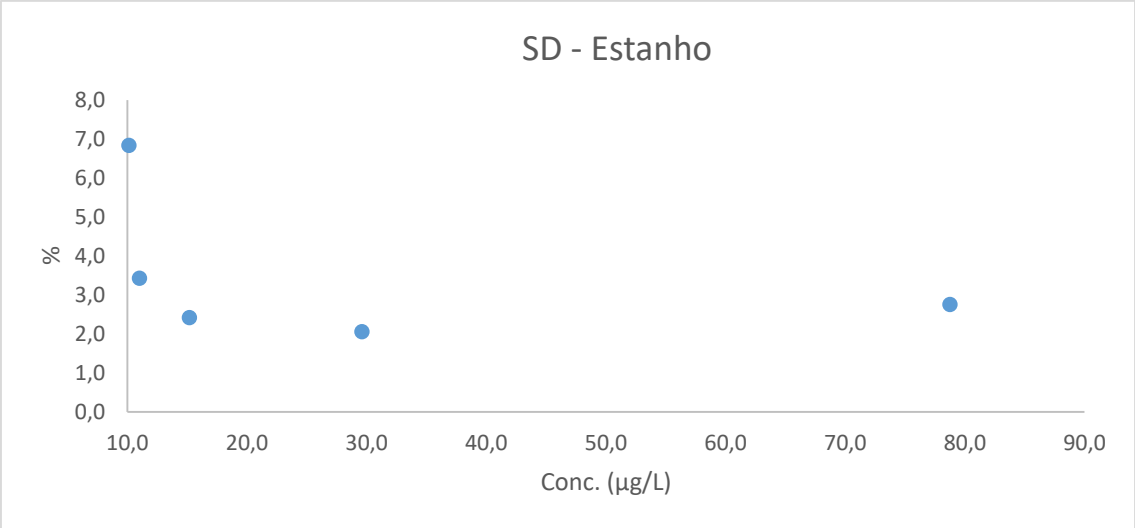


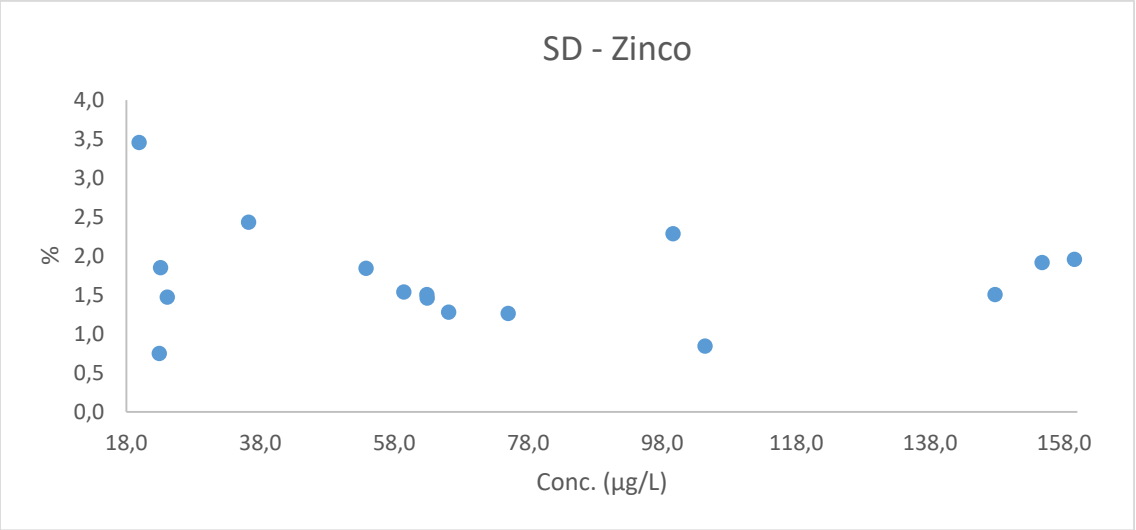






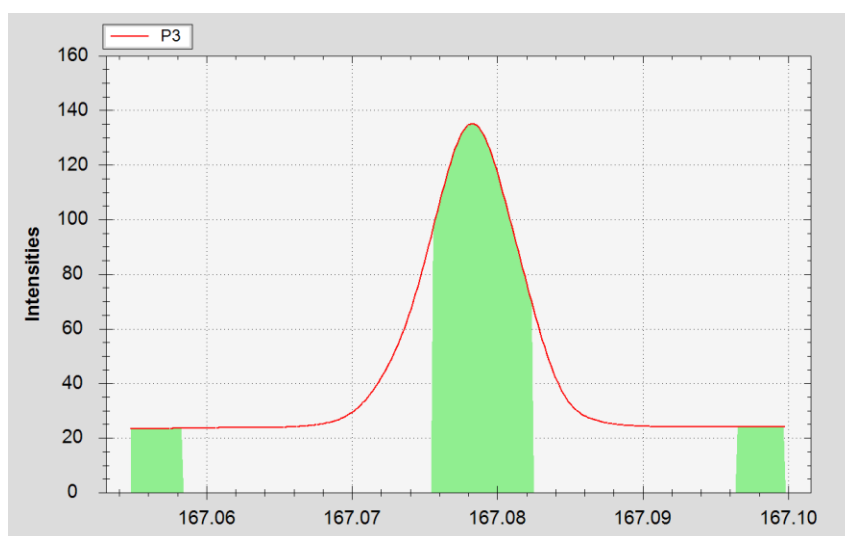




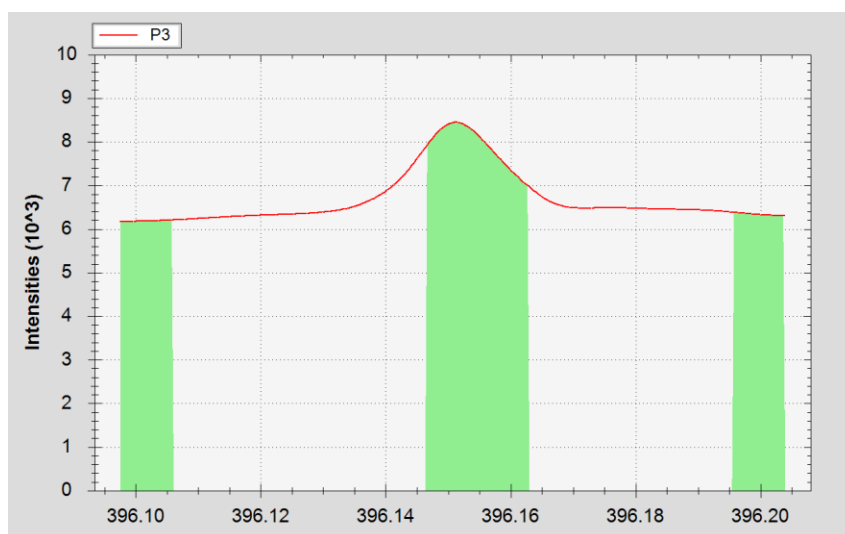


Anexo VIII – Espectros de emissão das linhas analíticas do método de ensaio

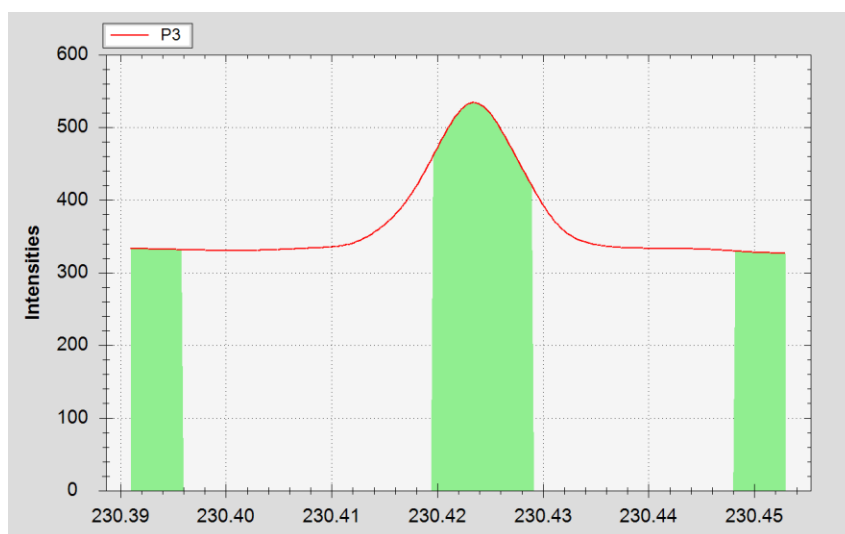
Alumínio (167,079 nm)



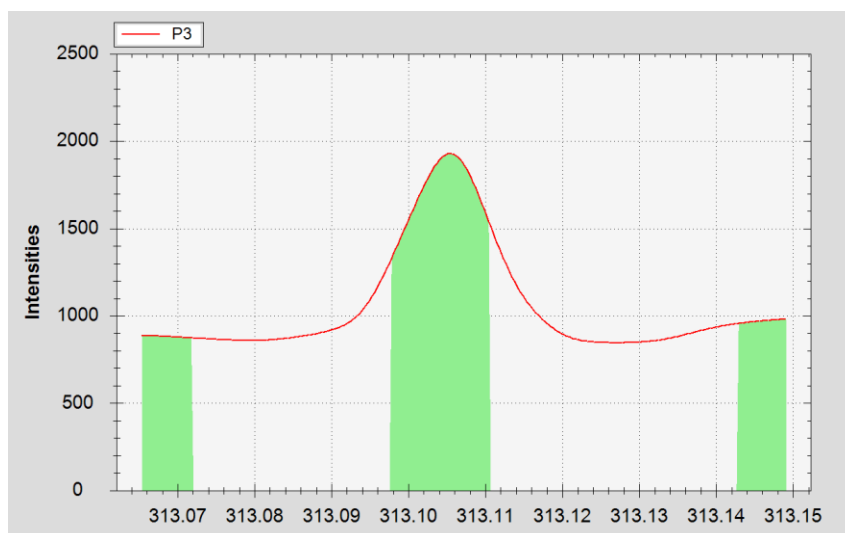
Alumínio (396,152 nm)



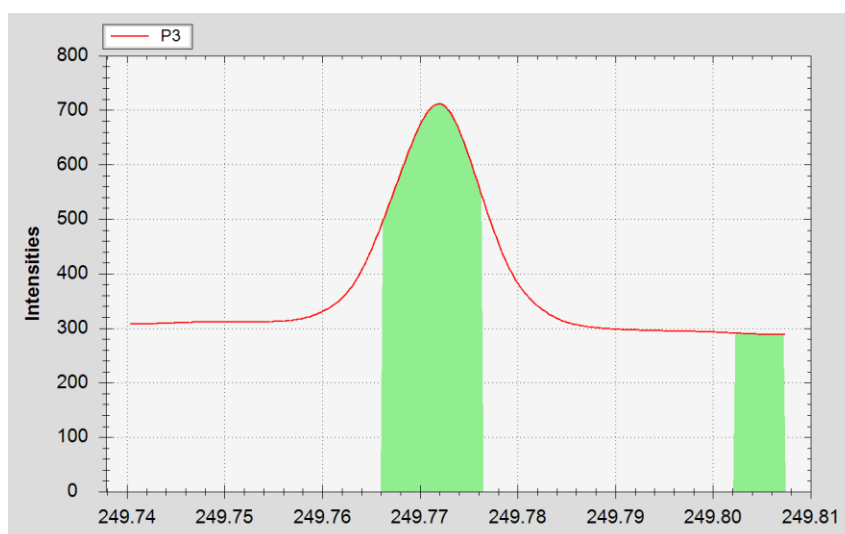
Bário



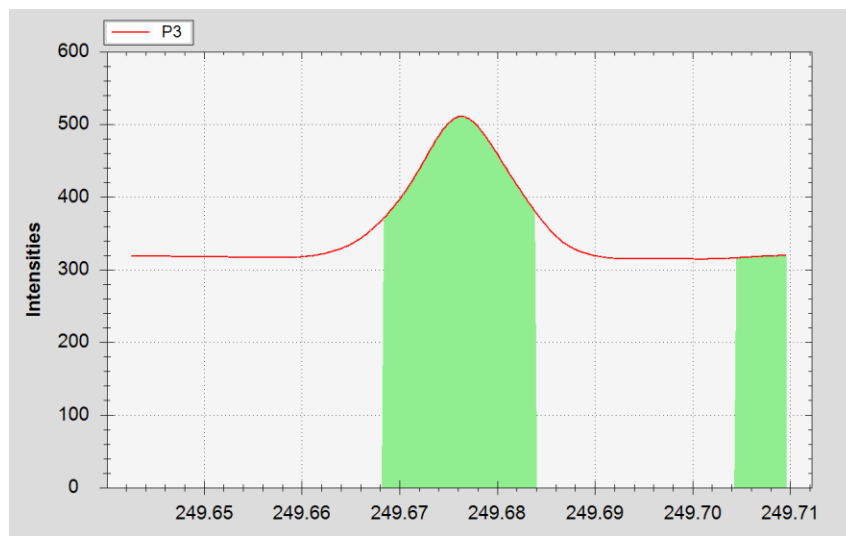
Berílio



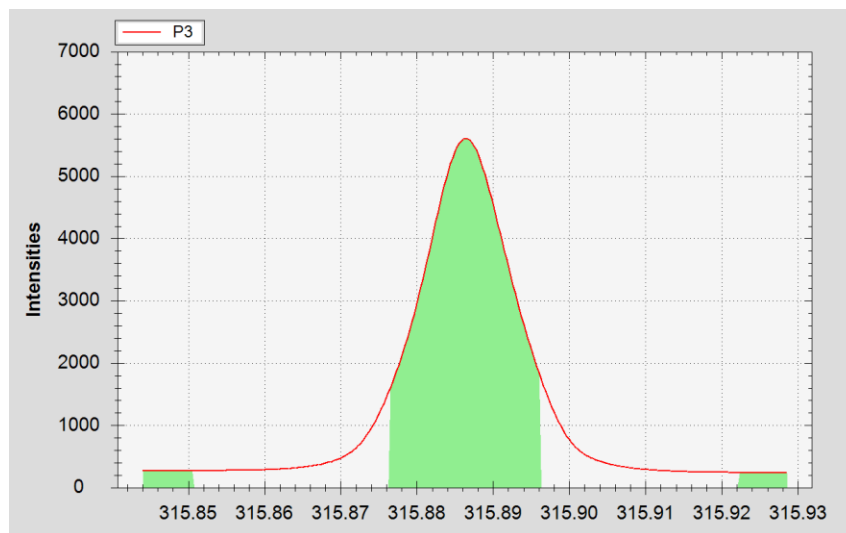
Boro (249,773 nm)



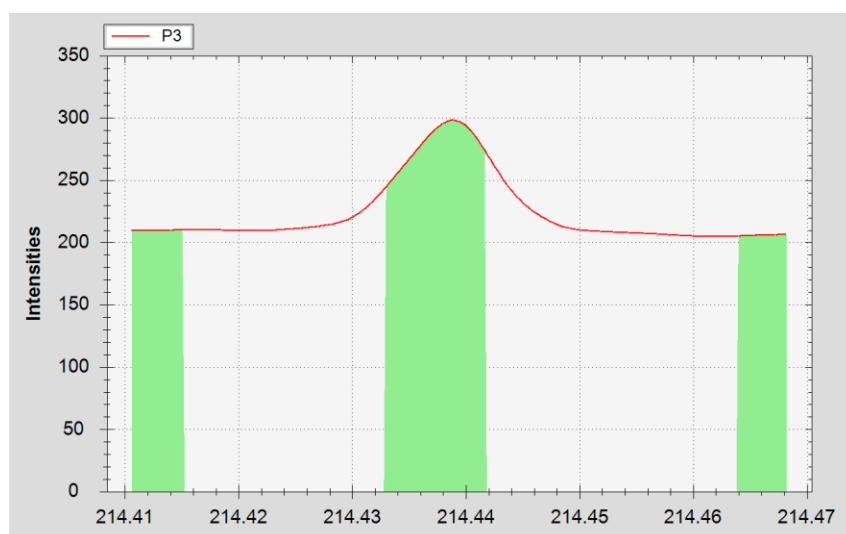
Boro (249,678 nm)



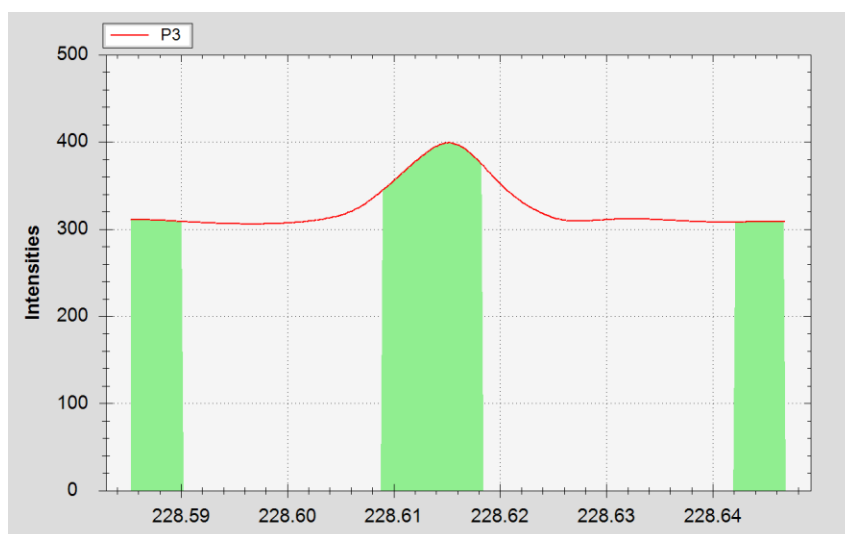
Cálcio



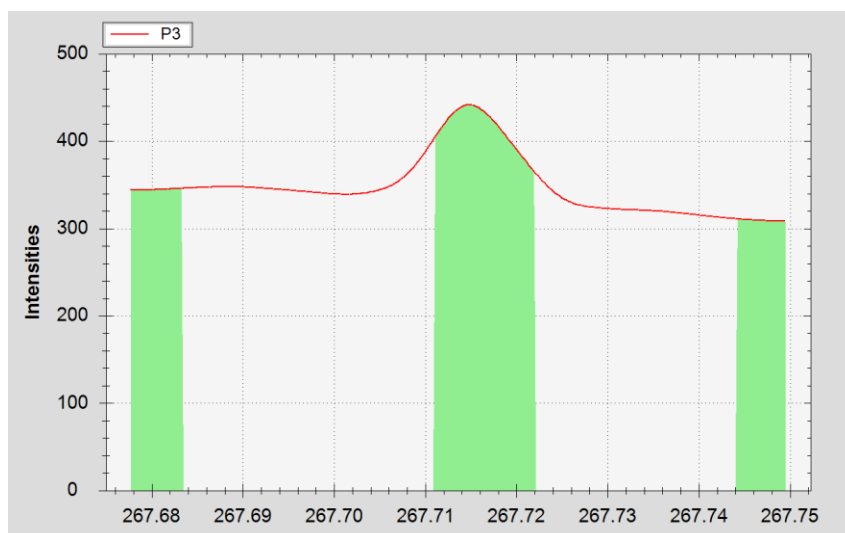
Cádmio



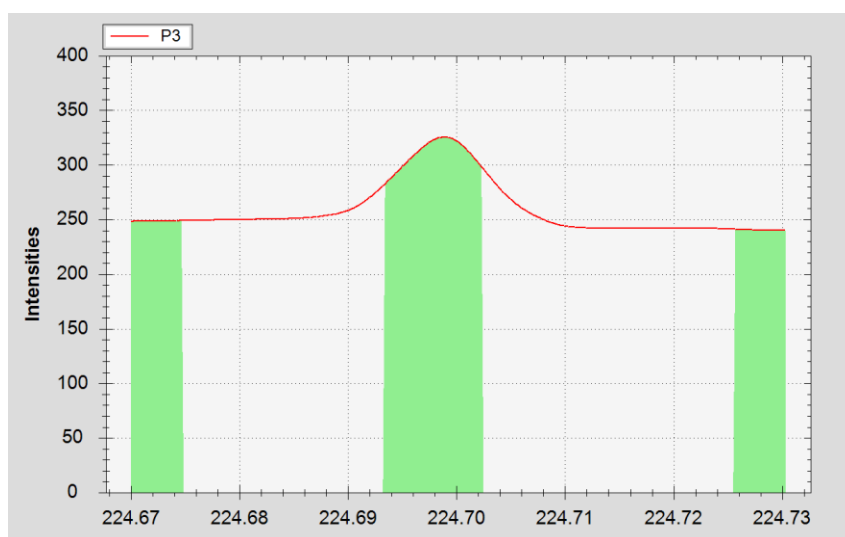
Cobalto



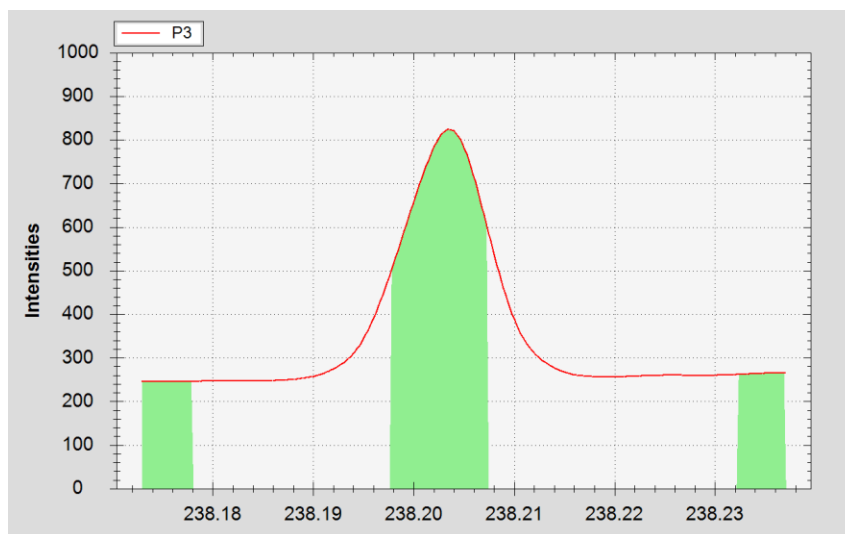
Crômio



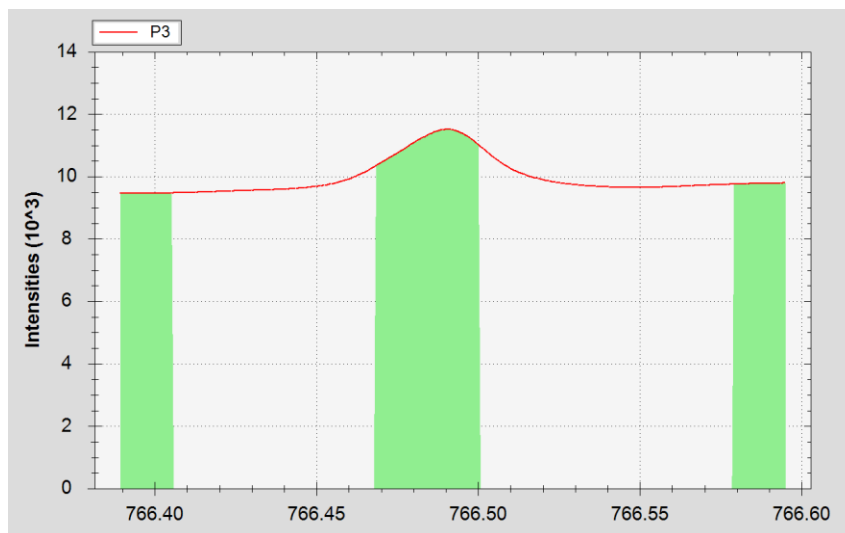
Cobre



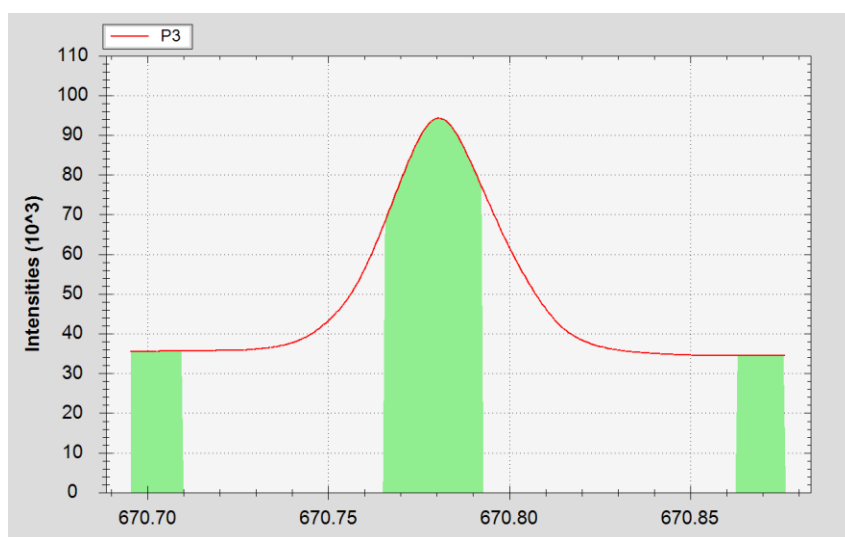
Ferro



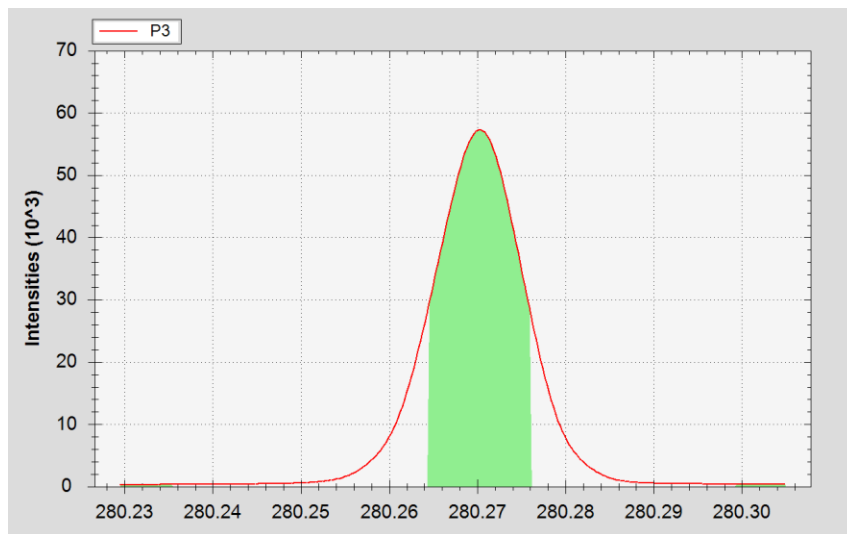
Potássio



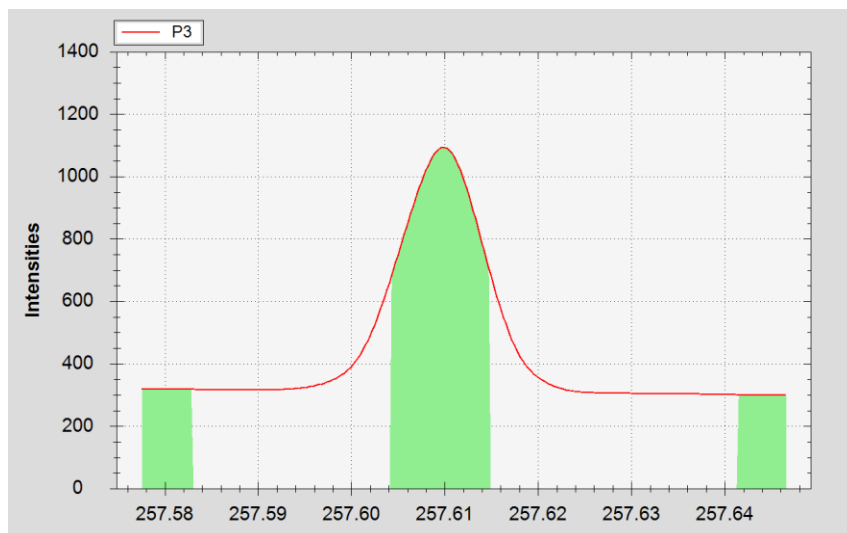
Lítio



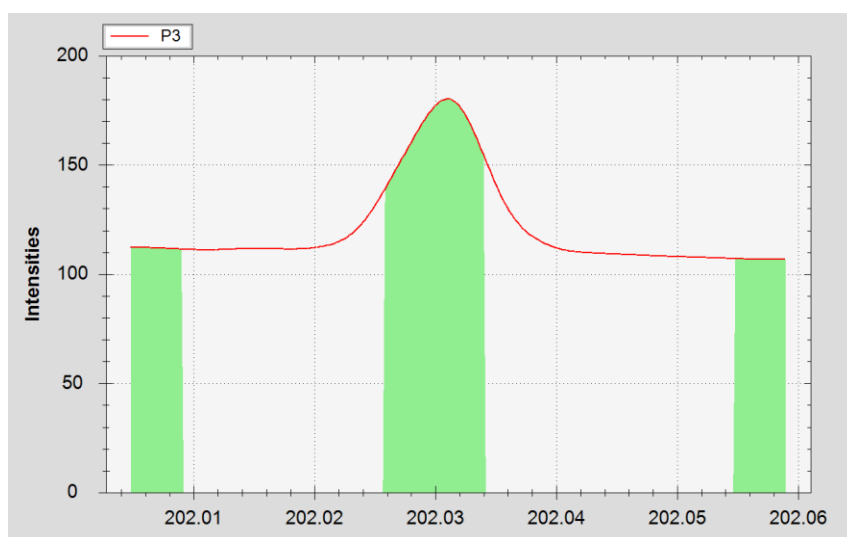
Magnésio



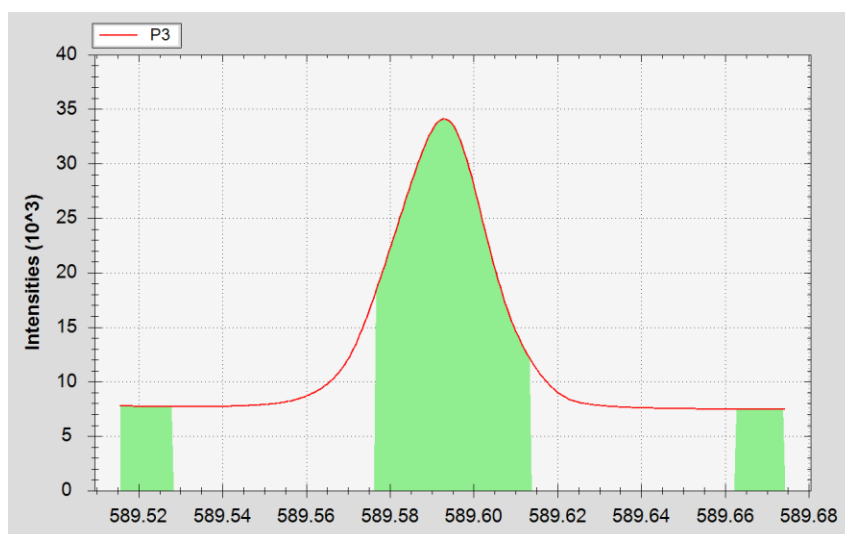
Manganês



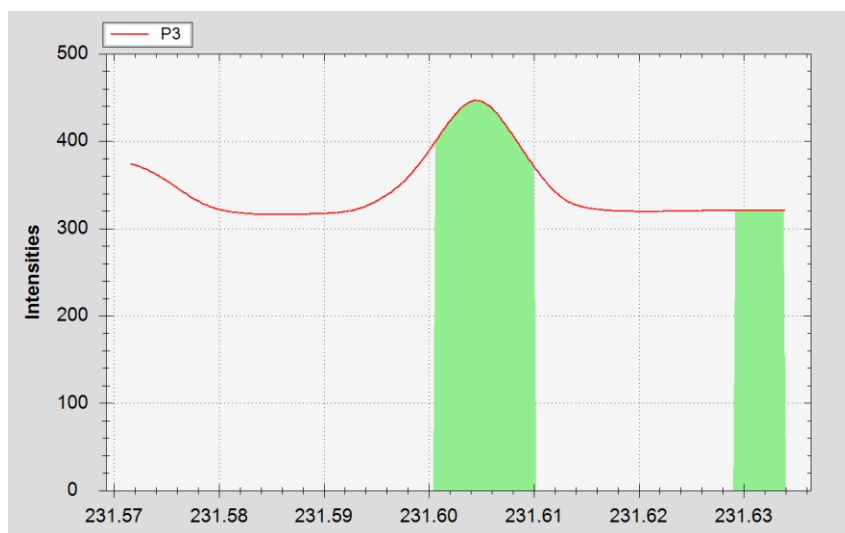
Molibdênio



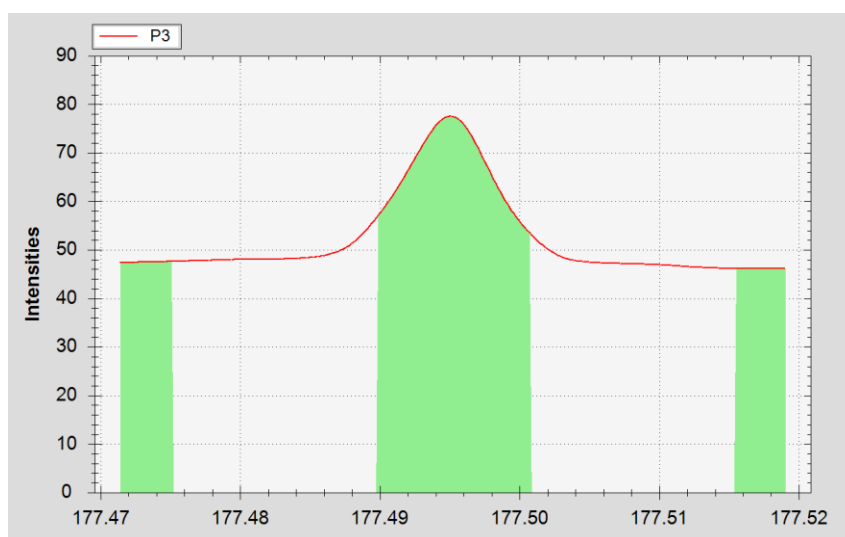
Sódio



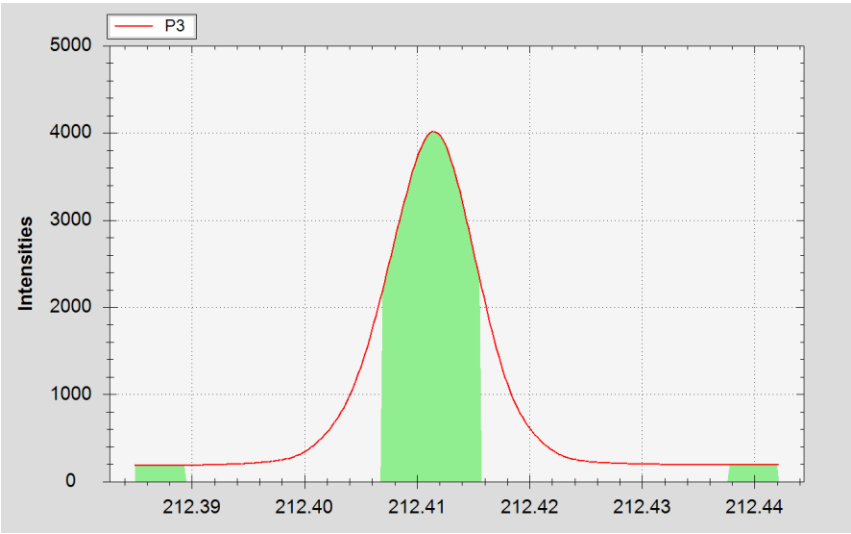
Níquel



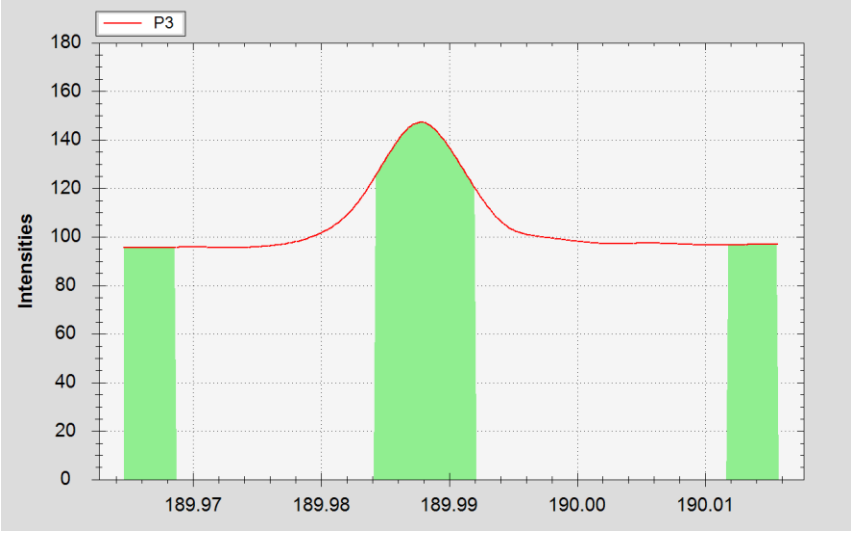
Fósforo



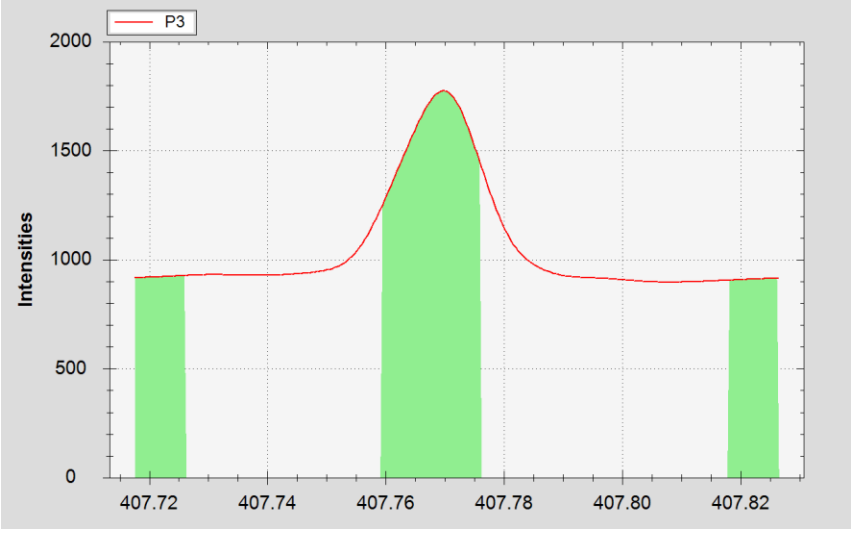
Silício



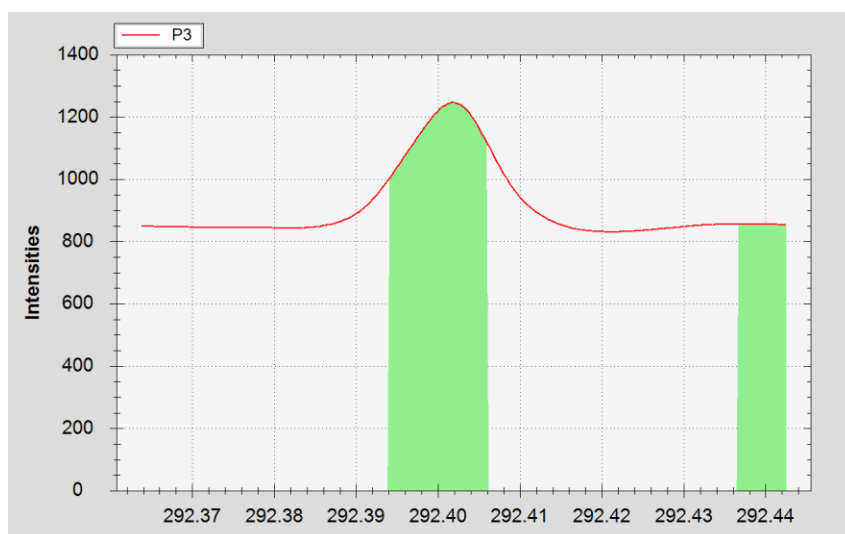
Estanho



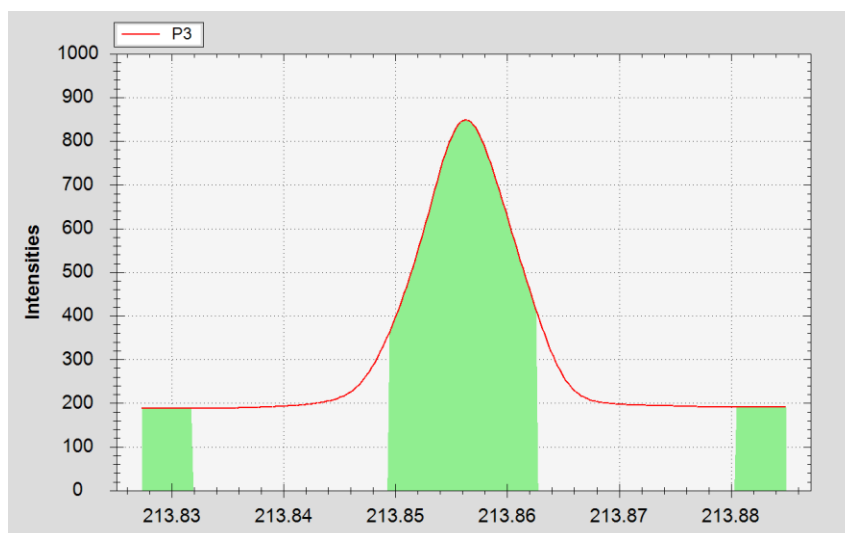
Estrôncio



Vanádio



Zinco



Anexo IX – Materiais de referência utilizados

TM 15.3



Environment and
Climate Change Canada

Environnement et
Changement climatique Canada

ENVIRONMENTAL MATRIX REFERENCE MATERIAL

Product Information Sheet

TM-15.3, lot 0917

A trace element fortified sample

Trace element matrix Reference Materials (RMs) are made with filtered and diluted Lake Ontario water and are preserved with 0.2% nitric acid. This fortified bulk RM has concentrations in the low range.

This Reference Material is intended for the verification or development of analytical methods for environmental analysis. It is not intended for use as a calibration standard.

Measurand	Value in µg/L		µ	N
Aluminum	90.1	±	8.8	73
Antimony	16.7	±	1.5	62
Arsenic	16.1	±	1.3	78
Barium	13.8	±	1.0	75
Beryllium	15.8	±	1.1	73
Bismuth	11.6	±	2.3	35
Boron	26.0	±	3.9	47
Cadmium	13.0	±	0.7	81
Chromium	16.8	±	1.0	90
Cobalt	15.4	±	1.0	69
Copper	17.2	±	1.5	82
Iron	26.2	±	2.6	58
Lead	11.6	±	0.8	74
Lithium	15.3	±	1.7	49
Manganese	18.3	±	1.2	71
Molybdenum	14.7	±	1.3	63
Nickel	17.7	±	1.5	77
Selenium	16.1	±	2.2	68
Strontium	114	±	7	68
Thallium	18.2	±	1.8	64
Tin	15.1	±	1.4	52
Titanium	14.9	±	1.1	48
Uranium	15.5	±	1.2	54
Vanadium	14.2	±	0.9	66
Zinc	35.1	±	3.7	82

Outliers of >3 standard deviations (SD) are excluded and calculated with 'Robust Analysis' Annex C, ISO DIS 13528:2015(E).

The uncertainty µ represents the +/-2 standard deviation limit for an individual measurement.

The 95% confidence interval on the population mean is (SD x 1.96) + √N.



Issue Date:
12 September 2017
Page 1 of 2

Canada

1640a

Table 2. Certified Values for Elements in SRM 1640a Expressed in Mass Concentration Units^(a)

Element	Mass Concentration ^(b) (µg/L)	<i>k</i>	<i>df</i>
Aluminum	53.0 ± 1.8	2.064	24
Antimony	5.105 ± 0.046	2.262	9
Arsenic	8.075 ± 0.070	1.977	142
Barium	151.80 ± 0.83	1.976	151
Beryllium	3.026 ± 0.028	2.045	29
Boron	303.1 ± 3.1	2.306	8
Cadmium	3.992 ± 0.074	2.365	7
Chromium	40.54 ± 0.30	2.008	51
Cobalt	20.24 ± 0.24	2.365	7
Copper	85.75 ± 0.51	2.120	16
Iron	36.8 ± 1.8	2.447	6
Lead	12.101 ± 0.050	1.965	517
Manganese	40.39 ± 0.36	2.160	13
Molybdenum	45.60 ± 0.61	2.013	46
Nickel	25.32 ± 0.14	2.001	59
Selenium	20.13 ± 0.17	2.160	13
Silver	8.081 ± 0.046	2.040	31
Strontium	126.03 ± 0.91	2.120	16
Thallium	1.619 ± 0.016	2.306	8
Uranium	25.35 ± 0.27	2.120	16
Vanadium	15.05 ± 0.25	2.365	7
Zinc	55.64 ± 0.35	1.995	68

^(a) Certified mass concentration values are calculated from the certified mass fraction values in Table 1 through multiplication by the density of the SRM 1640a solution. The uncertainty listed with each value is an expanded uncertainty about the mean. The expanded uncertainty is calculated following the ISO Guide [2] as $U = k u_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effect of uncertainty components associated with the certified mass fraction value and the solution density. The coverage factor (*k*) for each analyte is determined from the Student's *t*-distribution corresponding to the degrees of freedom (*df*) and a 95 % level of confidence.

^(b) The certified mass concentration values and expanded uncertainties are valid when the SRM solution is used within the temperature range (22 °C ± 5 °C).

Table 3. Reference Values for Elements in SRM 1640a Expressed in Mass Fraction Units^(a)

Element	Mass Fraction (mg/kg)	<i>k</i>	<i>df</i>
Calcium	5.570 ± 0.016	2.120	16
Magnesium	1.0502 ± 0.0034	2.262	9
Potassium	0.5753 ± 0.0020	2.179	12
Silicon	5.169 ± 0.017	2.074	22
Sodium	3.112 ± 0.031	2.776	4
	(µg/kg)		
Lithium	0.4034 ± 0.0092	2.776	4
Rubidium	1.188 ± 0.011	1.961	3204

^(a) Reference mass fraction values are the ICP-OES or ICP-MS values, adjusted upward for transpiration that may occur over the certification period while the SRM bottle remains sealed inside the aluminized Mylar pouch. (NOTE: *No correction has been applied for transpiration that will occur after the pouch seal has been broken.* See "Instructions for Use" for more information.) The magnitude of the transpiration adjustment (0.11 %) was selected so that the actual mass fractions are expected to be equal to the corresponding reference values approximately halfway through the certification period. The uncertainty listed with each value is an expanded uncertainty about the mean. The expanded uncertainty is calculated following the ISO Guide [2] as $U = k u_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effect of uncertainty components associated with the ICP-OES or ICP-MS analysis and the transpiration adjustment. The coverage factor (k) for each analyte is determined from the Student's t -distribution corresponding to the degrees of freedom (df) and a 95 % level of confidence.

Table 4. Reference Values for Elements in SRM 1640a Expressed in Mass Concentration Units^(a)

Element	Mass Concentration ^(b) (mg/L)	<i>k</i>	<i>df</i>
Calcium	5.615 ± 0.021	2.005	54
Magnesium	1.0586 ± 0.0041	2.045	29
Potassium	0.5799 ± 0.0023	2.040	31
Silicon	5.210 ± 0.021	2.005	54
Sodium	3.137 ± 0.031	2.571	5
	(µg/L)		
Lithium	0.4066 ± 0.0094	2.776	4
Rubidium	1.198 ± 0.011	1.961	3657

^(a) Reference mass concentration values are calculated from the reference mass fraction values in Table 3 through multiplication by the density of the SRM 1640a solution. The uncertainty listed with each value is an expanded uncertainty about the mean. The expanded uncertainty is calculated following the ISO Guide [2] as $U = k u_c$, where u_c is intended to represent, at the level of one standard deviation, the combined effect of uncertainty components associated with the reference mass fraction value and the solution density. The coverage factor (k) for each analyte is determined from the Student's t -distribution corresponding to the degrees of freedom (df) and a 95 % level of confidence.

^(b) The reference mass concentration values and expanded uncertainties are valid when the SRM solution is used within the temperature range (22 °C ± 5 °C).

1643f

Table 1. Certified Values, Expanded Uncertainties, and Coverage Factors (*k*) for Elements in SRM 1643f

Element	Mass Fraction ($\mu\text{g/kg}$)			<i>k</i>	Mass Concentration ($\mu\text{g/L}$)			<i>k</i>
Aluminum (Al)	132.5	±	1.2	1.9	133.8	±	1.2	1.9
Antimony (Sb)	54.90	±	0.39	1.9	55.45	±	0.40	2.0
Arsenic (As)	56.85	±	0.37	2.0	57.42	±	0.38	2.0
Barium (Ba)	513.1	±	7.3	2.1	518.2	±	7.3	2.1
Beryllium (Be)	13.53	±	0.11	2.1	13.67	±	0.12	2.1
Bismuth (Bi)	12.50	±	0.10	1.9	12.62	±	0.11	1.9
Boron (B)	150.8	±	6.6	2.2	152.3	±	6.6	2.2
Cadmium (Cd)	5.83	±	0.13	2.2	5.89	±	0.13	2.2
Calcium (Ca)	29 140	±	320	2.1	29 430	±	330	2.1
Chromium (Cr)	18.32	±	0.10	2.0	18.50	±	0.10	2.1
Cobalt (Co)	25.05	±	0.17	2.0	25.30	±	0.17	2.0
Copper (Cu)	21.44	±	0.70	2.1	21.66	±	0.71	2.2
Iron (Fe)	92.51	±	0.77	2.1	93.44	±	0.78	2.1
Lead (Pb)	18.303	±	0.081	2.0	18.488	±	0.084	2.1
Lithium (Li)	16.42	±	0.35	2.2	16.59	±	0.35	2.2
Magnesium (Mg)	7 380	±	58	1.9	7 454	±	60	2.0
Manganese (Mn)	36.77	±	0.58	2.1	37.14	±	0.60	2.2
Molybdenum (Mo)	114.2	±	1.7	2.1	115.3	±	1.7	2.1
Nickel (Ni)	59.2	±	1.4	2.2	59.8	±	1.4	2.2
Potassium (K)	1 913.3	±	9.0	2.0	1 932.6	±	9.4	2.1
Rubidium (Rb)	12.51	±	0.12	2.0	12.64	±	0.13	2.0
Selenium (Se)	11.583	±	0.078	2.0	11.700	±	0.081	2.0
Silver (Ag)	0.9606	±	0.0053	2.0	0.9703	±	0.0055	2.0
Sodium (Na)	18 640	±	240	2.1	18 830	±	250	2.1
Strontium (Sr)	311	±	18	2.1	314	±	19	2.2
Tellurium (Te)	0.9672	±	0.0082	2.0	0.9770	±	0.0084	2.0
Thallium (Tl)	6.823	±	0.034	1.9	6.892	±	0.035	2.0
Vanadium (V)	35.71	±	0.27	2.0	36.07	±	0.28	2.0
Zinc (Zn)	73.7	±	1.7	2.1	74.4	±	1.7	2.1

(a) The measurand is the total mass fraction for each element. Metrological traceability is to the SI unit for mass, expressed as micrograms per kilogram and micrograms per liter.

Preparation of Material: SRM 1643f was prepared at NIST using only high purity reagents. A polyethylene cylindrical tank was filled with deionized water and sufficient nitric acid to bring the nitric acid amount of substance concentration (molarity) to approximately 0.32 mol/L. Known masses of the matrix elements (sodium, potassium, calcium, and magnesium) were added to the tank as solutions prepared from the same materials used to prepare the SRM 3100 series of single element solutions. Known masses of the other elements were then added to the tank solution using weighed aliquots of the SRM 3100 series. After mixing thoroughly, the tank solution was transferred into the acid-cleaned, 250 mL, polyethylene, SRM bottles and immediately sealed in individual aluminized plastic bags.

Certification of Material: Each of the certified elements was determined using either ICP-MS or ICP-OES. The final total mass of the tank solution prior to bottling was determined from the sum of the mass fraction values of the elements in Table 1 and the sum of the known masses of those elements added to prepare the solution, therefore allowing calculation of the gravimetric preparation mass fraction for each element. Certified mass fraction values were calculated by combining the gravimetric preparation values with the ICP-MS or ICP-OES values, as described under Certified Values. Certified mass concentration values were calculated using the measured density of $1.0101 \text{ g/mL} \pm 0.0012 \text{ g/mL}$, where the uncertainty is expressed at a confidence level of approximately 95 %, within the temperature range of 15 °C to 25 °C.



CERTIFICATE OF ANALYSIS

ERM® - CA011c

Hard Drinking Water UK – Metals				
Constituent ²	Number of laboratories	Certified value ³ (µg/L)	Uncertainty ⁴ (µg/L)	Coverage factor, k ⁴
Aluminium	19	199.7	7.5	2.09
Antimony	18	5.60	0.27	2.10
Arsenic	19	10.25	0.41	2.04
Barium	17	117.0	3.8	2.09
Beryllium	12	5.20	0.20	2.16
Boron	17	993	48	2.11
Cadmium	18	5.31	0.23	2.05
Chromium	17	49.3	1.9	2.10
Cobalt	13	5.25	0.21	2.16
Copper	19	1963	62	2.08
Iron	18	198.3	5.1	2.07
Lead ¹	1	10.01	0.17	2.16
Manganese	18	49.1	1.6	2.09
Molybdenum	12	5.32	0.31	2.18
Nickel	10	19.49	0.98	2.09
Selenium	18	11.13	0.47	2.08
Strontium	10	508	26	2.23
Vanadium	10	5.41	0.33	2.26
Zinc	19	605	17	2.07
	Number of laboratories	Certified value ³ (mg/L)	Uncertainty ⁴ (mg/L)	Coverage factor, k ⁴
Calcium	18	81.0	1.3	2.08
Magnesium	18	13.62	0.26	2.09
Potassium	18	5.01	0.12	2.09
Sodium	18	24.47	0.63	2.09

1) Lead was determined at LGC using Isotope Dilution ICP-MS (IDMS). The unweighted mean of duplicate IDMS measurements was used. These certified values were confirmed by the results of an inter-laboratory comparison using different methods (see Table 1).

2) The remaining constituents were certified using the results of an inter-laboratory comparison using different methods (see Table 1). Robust estimates of dispersion and location were used as the values of the concentration determined by participant laboratories. Each data set was obtained in a different laboratory and/or using a different method of measurement.

3) The results are traceable to the SI through the physical and chemical standards used by LGC and the inter-laboratory study participant laboratories. The certified values are reported to the same number of decimal places as the uncertainties (reported to 2 significant figures).

4) The quoted uncertainty is the half-width of the expanded uncertainty interval calculated using a coverage factor (k), which gives a level of confidence of approximately 95 %.

This certificate is valid for 12 months from the date of shipment provided the sample is stored under the recommended conditions.

The minimum amount of sample to be used is 1 mL.

European Reference Material ERM®-CA011c was produced and certified under the responsibility of LGC according to the principles laid down in the Technical Guidelines of the European Reference Materials® co-operation agreement between BAM-LGC-IRMM. Information on these guidelines is available on the Internet (<http://www.erm-qm.org>).

Accepted as an ERM®, Teddington, November 2015.

Signed:

Dr Derek Craston, UK Government Chemist
 LGC Limited
 Queens Road
 Teddington
 Middlesex
 TW11 0LY, UK



CERTIFICATE OF ANALYSIS

SPS-SW2 Batch 135

Reference Material for Measurement of Elements in Surface Waters

This Reference Material is intended for daily use in conjunction with measurement of elements in surface waters. The water solution contains 45 elements with concentrations traceable to ultra pure metals or stoichiometrically well-defined substances. The certified values are based on a gravimetric procedure, i.e. weight per volume composition of the primary reference material dissolved in high purity sub-distilled acids. The primary reference materials used in the production have been traced to Standard Reference Materials issued by National Institute of Standards and Technology (USA) by chemical measurements applying inductively coupled plasma atomic emission spectrometry and/or inductively coupled plasma mass spectrometry.

Stability: The certificate is valid for 3 years from the production date (November 01, 2017) provided that the sample solution is kept tightly capped and stored under normal laboratory conditions (less than 30 °C). The solution contains 0.5% nitric acid (W/V).

Element	Concentration in ng/ml (20 °C) ^a	Traceable to NIST SRM	Element	Concentration in ng/ml (20 °C) ^a	Traceable to NIST SRM
Al	250 ± 1	3101a	Na	10000 ± 50	3152a
As	50.0 ± 0.3	3103	Nd	2.50 ± 0.02	3135
B ^b	250	-	Ni	50.0 ± 0.3	3136
Ba	250 ± 1	3104	P	500 ± 3	3139
Ca	10000 ± 50	3109a	Pb	25.0 ± 0.1	3128
Cd	2.50 ± 0.02	3108	Pr	2.50 ± 0.02	3142
Ce	2.50 ± 0.02	3110	Rb	50.0 ± 0.3	3145
Co	10.0 ± 0.05	3113	S	10000 ± 50	3154
Cr	10.0 ± 0.05	3112	Sc	2.50 ± 0.02	3148
Cs	10.0 ± 0.05	3111	Se	10.0 ± 0.05	3149
Cu	100 ± 1	3114	Si	5000 ± 30	3150
Dy	2.50 ± 0.02	3115	Sm	2.50 ± 0.02	3147
Er	2.50 ± 0.02	3116	Sr	250 ± 1	3153
Eu	2.50 ± 0.02	3117	Tb	2.50 ± 0.02	3157
Fe	100 ± 1	3126	Th	2.50 ± 0.02	3159
Gd	2.50 ± 0.02	3118	Tl	2.50 ± 0.02	3158
Ho	2.50 ± 0.02	3123	Tm	2.50 ± 0.02	3160
K	1000 ± 5	3141a	U	2.50 ± 0.02	3164
La	2.50 ± 0.02	3127	V	50.0 ± 0.3	3165
Lu	2.50 ± 0.02	3130	Y	2.50 ± 0.02	3167
Mg	2000 ± 10	3131a	Yb	2.50 ± 0.02	3166
Mn	50.0 ± 0.3	3132	Zn	100 ± 2	3168a
Mo	50.0 ± 0.3	3134			

^a The uncertainties (half width of the 95 % confidence intervals) listed for the individual elements is based on scientific judgement and represents an estimate of the combined effects of any error, attributed to gravimetric and volumetric procedures, purity of the source material and possible contamination throughout the production steps.

^b Information value only.



Signature by:

Knut Andersen
Certifying Officer

Oslo, November 01, 2017
Certificate revision 1.0

Spectrapure Standards as, P.O. Box 190 Manglerud, NO-0612 Oslo, Norway
E-mail: mail@spectrapure.no, http://www.spectrapure.no